

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
an der Universität Düsseldorf
(Dir. : Prof. Dr. G. Röhrborn)

DIE WIRKUNG CHRONISCHER ÄTHANOLGABE
AUF DIE OOGENESE DER MAUS

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
eines Doktors
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

WALTER SEITE

(1978)

1979



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
an der Universität Düsseldorf
(Dir. : Prof. Dr. G. Röhrborn)

DIE WIRKUNG CHRONISCHER ÄTHANOLGABE AUF DIE OOGENESE DER MAUS

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades
eines Doktors
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

WALTER SEITE

(1978)



"Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf"

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Reinauer

Referent

gez.: Prof. Dr. Röhrborn

Korreferent

gez.: Prof. Dr. Beck

INHALTSANGABE

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	S. 1
1. Geschichtliche und gesellschaftliche Bedeutung des Alkohols	
2. Das embryo-fetale Alkoholsyndrom	
3. Chromosomenaberrationen bei Spontanaborten	
4. Problemstellung	
II. LITERATURÜBERSICHT ZUM PROBLEM "ALKOHOL UND MUTAGENESE"	S. 15
III. DIE OOGENESE DER MAUS	S. 20
1. Das Prädiktyotän-Stadium	
2. Das Diktyotän-Stadium	
3. Das Präovulatorische-Stadium	
IV. MUTATIONSTYPEN UND DEREN ENTSTEHUNGSMECHANISMUS	S. 27
1. Mutationen und ihre Einteilung	
2. Strukturelle Chromosomenaberrationen	
2,1 Deletion bzw. Defizienz	
2,2 Zentrische Fusion bzw. Satellitenassoziation	
2,3 Achromatische Lücken (Gaps)	
3. Genommutationen	
V. MATERIAL UND METHODEN	S. 36
1. Testsubstanz Äthanol	
1,1 Chemische Struktur	
1,2 Metabolismus	
1,3 Wirkungen auf den menschlichen Organismus	

2. Versuchsaufbau und Methode
 - 2,1 Versuchstiere
 - 2,2 Vasektomie der männlichen Tiere
 - 2,3 Versuchsbedingungen
 - 2,3,1 Alkoholapplikation
 - 2,3,2 Oogenesestadium mit Alkoholeinwirkung
 - 2,3,3 Verpaarungsschema
 - 2,4 Oocytenpräparationsmethode
 - 2,5 Kriterien der M II-Analyse
3. Versuch zum Thema "Alkohol und Teratogenese"

VI. ERGEBNISSE	S. 56
1. Alkoholdosis	
2. Alkoholtrinkphase	
3. Überblick über Anzahl und Verwendung der Versuchstiere	
4. Oocytenausbeute	
5. Metaphasenausbeute	
6. Auswertung nach aberranten Metaphasen II	
7. Auswertung nach Tieren mit Chromosomenaberrationen	
8. Photographien aberranter M II	
9. Ergebnisse der teratogenen Alkoholwirkung	
VII. DISKUSSION	S. 74
VIII. ZUSAMMENFASSUNG	S. 90
IX. LITERATURVERZEICHNIS	S. 91

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1. Geschichte und gesellschaftliche Bedeutung des Alkohols

Als traditionelles Suchtmittel unseres Kulturkreises läßt sich der Ursprung der gegorenen Getränke wie Met, Bier und Wein bis in vorgeschichtliche Zeiten zurückverfolgen. Gab es im Altertum und Mittelalter nur gegorene Getränke, so konnte man seit der Erfindung des Brennens von Wein durch italienische Alchemisten im 11./12. Jahrhundert (BATTEGAY et al., 1977) auch auf hochprozentige alkoholische Getränke zurückgreifen. Die Verbreitung des Alkohols als flüssiges Nahrungs- und leider auch als Suchtmittel dehnte sich dann im 19. Jahrhundert infolge der verbesserten landwirtschaftlichen Nutzung der Anbauggebiete des Weines, leistungsfähiger moderner Destillieranlagen, sowie Fortschritten in den Gärungstechniken und Transportmöglichkeiten gewaltig aus.

So ist es nicht verwunderlich, daß der soziokulturelle Stellenwert des Alkohols in der letzten Zeit einen geradezu beängstigenden Aufschwung genommen hat und noch immer nimmt; wo doch fast jede Gelegenheit, - sei es zur Beruhigung wie zur Leistungssteigerung, zu den Mahlzeiten wie auch als Schlaftrunk oder aus Kummer, und häufig, um nicht zu sagen zu häufig, bei jeder gesellschaftlichen Zusammenkunft - , zum Konsum von Alkohol in jeder Form wahrgenommen wird und man nur selten widerstehen kann. Als Beispiel sei hier der Jahresverbrauch an reinem Alkohol (100 %) je Einwohner in der Schweiz und in der BRD aufgeführt. Der Schweizer Bürger verbrauchte in den Jahren 1971 - 73 pro Kopf und Jahr 11,2 Liter 100 %igen Alkohol (BATTEGAY et al., 1977). In der BRD stieg der Alkoholkonsum in den Jahren 1950 - 1970 von ca. 3,5 Liter auf 10,8 Liter reinen Alkohols pro

Kopf und Jahr (MÜTING, 1971); diese Alkoholmengen entsprechen etwa 270 Liter Bier oder 108 Liter Wein oder 29 Liter hochprozentiger Alkohol pro Person und Jahr.

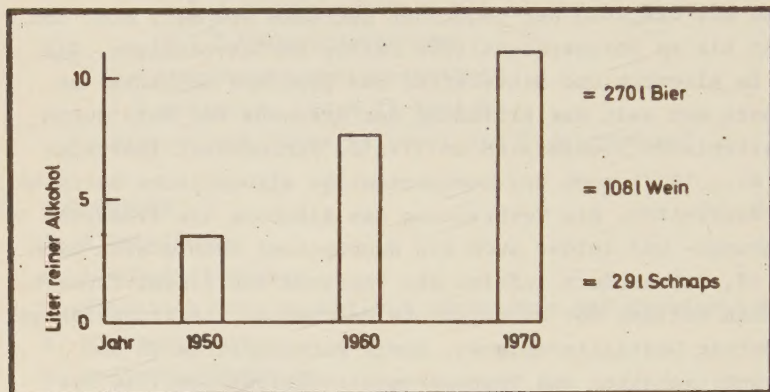


Abb. 1: Alkoholverbrauch in der BRD in den Jahren 1950, 1960 und 1970 (nach MÜTING, 1971)

Das gelegentliche Trinken führt nicht selten über das Stadium der Gewöhnung und Abhängigkeit zum Krankheitsbild des Alkoholismus. Jellinek hat den Alkoholiker folgendermaßen charakterisiert: "Alkoholiker sind exzessive Trinker, deren Abhängigkeit vom Alkohol einen solchen Grad erreicht hat, daß sie deutliche Störungen und Konflikte in ihrer körperlichen und geistigen Gesundheit, ihren mitmenschlichen Beziehungen, ihren sozialen und wirtschaftlichen Funktionen aufweisen; oder sie zeigen Prodrome einer solchen Entwicklung" (HOLZGREVE, 1970).

Die Anzahl der Personen, die in der BRD zum Kreis der Alkoholkranken gehören, ist nur schätzungsweise zu erfassen, da mit einer hohen Dunkelziffer gerechnet werden muß. BIERICH (1976) verweist auf Schätzungen für 1969 von 600.000 - 800.000 Alkoholkranken, die damit sogar die Zahl der Drogenabhängigen um ein Mehrfaches übertrifft. Doch ist der Gipfel noch lange nicht erreicht, so daß man für 1975 mit ca. 1,2 Mill. alkoholabhängigen Personen rechnete, darunter 300.000 Frauen (FEUERLEIN, 1974/75).

War der Anteil der Frauen in den früheren Jahren nur gering, so hat er sich jedoch in den letzten Jahren zu ihren Ungunsten entwickelt, so daß in den nächsten Jahren ein noch höherer Prozentsatz angenommen werden muß. Auch ist die Dunkelziffer der trinkenden Frauen größer als die der alkoholabhängigen Männer, da Frauen weniger in der Öffentlichkeit trinken. Sie greifen vielmehr im "stillen Kämmerlein" zu alkoholischen Getränken und bevorzugen im allgemeinen schärfere Getränke wie Weinbrand, Whisky und andere Schnapssorten. Zu erwähnen ist noch die sozioökonomische Herkunft der trunksüchtigen Frauen, die sich von der der Männer unterscheidet. Stammen die Männer hauptsächlich aus den unteren Schichten der Gesellschaft, so sind die Frauen, die dem Alkohol verfallen sind, weitgehend in der sogenannten besseren Gesellschaft zu finden (HOLZGREVE, 1974; KIELHOLZ und BATTEGAY, 1967).

Die soziale, gesundheitliche und wirtschaftliche Bedeutung des Problems Alkohol für unsere Gesellschaft ist unverkennbar. Der Alkoholkranke belastet mit seiner Sucht nicht nur

sich selbst, sondern aufgrund der Folgekrankheiten wie chronische Magenschleimhautentzündungen, Magengeschwüre, Veränderungen der Bauchspeicheldrüse, Leberschäden, Nervenleiden und nicht zuletzt psychische Schäden das öffentliche Gesundheitswesen und somit jeden einzelnen Steuerzahler.

2. Das embryo-fetale Alkoholsyndrom

Welche Gründe gibt es nun, sich die Frage zu stellen, ob durch Alkohol Chromosomenmutationen induziert werden können?

Daß es zwischen dem Alkoholgenuß von Frauen vor und während der Schwangerschaft und Fehlbildungen der von diesen Frauen geborenen Kindern Verbindungen gibt, wurde schon in der griechischen und römischen Mythologie vermutet. So wurde in Karthago den Ehepaaren am Hochzeitstag verboten, Wein zu trinken, damit kein mißgebildetes Kind gezeugt werden konnte (HAGGARD, 1942). Im Jahre 1834 stellte ein Komitee des "house of commons" fest, daß die Kinder von Alkoholikerinnen "ein verkümmertes, eingeschrumpftes und unvollkommenes Aussehen" hätten (REPORT, 1834). Weiterhin berichteten SULLIVAN (1900), LECOMTE (1950) und CHRISTIAENS (1960) über Tot- und Frühgeburten bei chronischen Alkoholikerinnen und über eine steigende Zahl von Epilepsiefällen bei deren Nachkommen (ROE, 1944). Seitdem erschienen immer häufiger Berichte, in denen ein Zusammenhang zwischen mütterlichem Alkoholismus und Mißbildungen bei deren Kindern vermutet wurde (LADRAQUE, 1901; ELDERTON u. PEARSON, 1910; SCHÄFER, 1962; ULLELAND et al., 1970). Auch der Volksmund läßt die Tatsache der negativen Alkoholwirkung auf Leben und Gesundheit eines werdenden Kindes nicht unerwähnt, so daß es bisweilen heißt, ein debiler oder mißgebildeter Mensch sei "im Rausch gezeugt worden".

In der medizinischen Wissenschaft hat sich für eine derartige Alkoholauswirkung auf das neugeborene Kind der Begriff "embryo-fetales Alkoholsyndrom" (JONES, 1973) oder "Alkohol-Embryopathie" (MAJEWSKI, 1976) eingebürgert.

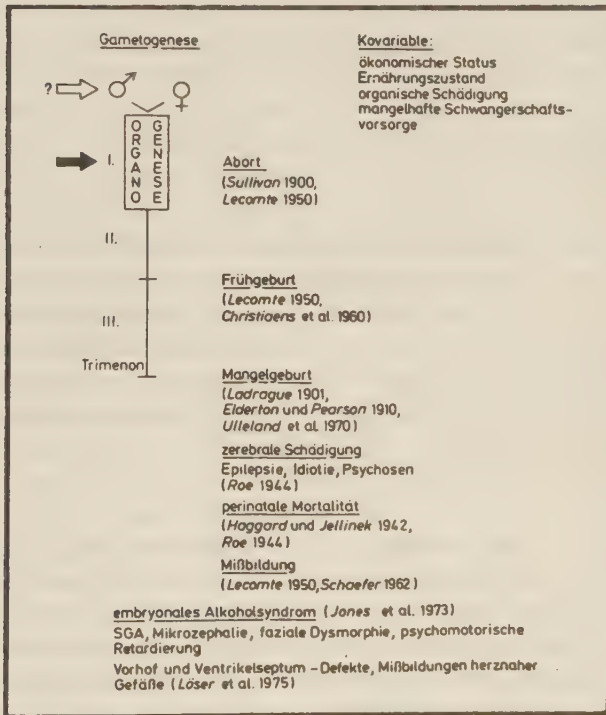


Abb. 2: Alkoholwirkung auf Schwangerschaftsverlauf und Feten
 (nach HINCKERS, 1976)

Die ersten Berichte über das embryo-fetale Alkoholsyndrom (efAS) bei Kindern von alkoholkranken Müttern erschienen 1968 von LEMOINE. Bis heute sind in der Literatur ca. 300 Kinder mit efAS beschrieben worden, deren Symptome BIERICH (1976) folgendermaßen gliederte:

1. intrauterine Hypotrophie
2. erhebliche Dysmorphie des Gesichtes
3. andere somatische Fehlbildungen, u.a. am Herzen
4. typische psychische und intellektuelle Entwicklungsstörungen

JONES (1973) untersuchte 8 Kinder hinsichtlich dieses efAS und berichtete von Veränderungen wie Mikrozephalie, Verkürzung der Lidspalten, sowie neben Gesichtsschädel-, Gliedmaßen- und Herzveränderungen auch von Kindern mit prä- und postnatalem Minderwuchs. Fast alle von ihm beschriebenen Kinder wurden in der 38. Schwangerschaftswoche geboren und hatten jedoch nur das Geburtsgewicht und die Größe eines Feten in der 33. bis 34. Woche.

BIERICH (1976) stellte bei seinen Untersuchungen an 24 Kindern, die nach seiner Diagnose eindeutig dem efAS zuzuordnen waren, fest, daß nach einer durchschnittlichen Schwangerschaftsdauer von 37,2 Wochen die Körperlänge mit 44,1 cm, das Geburtsgewicht mit 1959 g und der Kopfumfang mit 32,9 cm einen Rückstand von 4,7 Wochen zur Normalentwicklung aufwiesen. Anzumerken ist hier, daß der Kopfumfang der Kinder zur Zeit der Geburt mit der Körperlänge und dem Gewicht korrelierten, wohingegen später eine Mikrozephalie festzustellen war, wie sie auch schon von JONES (1973) beschrieben worden war. Diese Mikrozephalie ist gleichzeitig verbunden mit einer gestörten Gehirnentwicklung, so daß

psychische und geistige Fehlentwicklung des Kindes die Regel sind, die mit cerebralen Defektzuständen, Hydrocephalus und cerebralen Anfallsleiden kombiniert sein können. Die neurologischen Befunde zeigten erhebliche Hypermotilität und Exzitabilität, sowie cerebelläre Ataxie begleitet von einer muskulären Hypotonie. All diese Symptome müssen auf ein vermindertes Wachstum und eine fehlerhafte Entwicklung des Gehirns zurückzuführen sein. Bisher konnte jedoch nur in zwei Fällen durch eine Sektion diese Vermutung bestätigt werden.

JONES und SMITH (1973/75) konnten durch die Sektion eines 5 Tage alt gewordenen Kindes mit efAS zeigen, daß die Seitenventrikel im Sinne eines Hydrozephalus e vacuo massiv erweitert waren, der Hirnmantel schmal entwickelt war und das Corpus callosum fehlte. Außerdem stellten sie eine Ansammlung heterotroper Ganglien- und Gliazellen über der Hirnoberfläche und der Pia mater fest, so daß die Hirnentwicklung sowohl quantitativ als auch qualitativ gestört war.

Neuere Untersuchungen von MAJEWSKI et al. (1976) zeigten bei der Sektion eines 9 Monate alten Kindes mit efAS Hirnfehlbildungen wie "exzessiver Hydrozephalus internus infolge fehlenden Aquädukts mit einem nur wenige mm dicken Hirnmantel, Polymikrogyrie, Agenesie des Corpus callosum, hypoplastisches, fehlgebildetes Kleinhirn, ausgedehnte Porenzephalie, multiple Heterotypien aufgrund von neuronalen Migrationsstörungen und u.a. eine Syringomyelie des gesamten Rückenmarkes".

Da auch bei anderen Syndromen, wie z.B. dem EDWARDS-Syndrom (Trisomie 18), dem DUBOWITZ-Syndrom (Ätiologie unbekannt), dem NOONAN-Syndrom (Pseudo-Ullrich-Turner-Syndrom ohne

Chromosomenaberrationen), dem GREGG-Syndrom (Röteln-Embryopathie), dem CORNELIA-de-LANGE-Syndrom (Ätiologie unbekannt), dem SMITH-LEMLI-OPITZ-Syndrom (vermutlich autosomal-rezessiv), Symptome wie beim efAS auftreten können, ist die Differenzialdiagnose sehr schwierig und eine Abgrenzung nicht immer sicher feststellbar. Zusammenfassend seien deshalb hier noch einmal alle in der Literatur beschriebenen Symptome des efAS sowie deren Häufigkeit bei den einzelnen Fällen aufgeführt.

%	SYMPTOME
91	intrauteriner Minderwuchs
87	Mikrozephalus
84	statom. u. mentale Retardierung
67	Hyperaktivität
58	Hypotonie der Muskulatur
61	Epikanthus
46	Ptosis
39	Blepharophimose
23	Strabismus
38	Ohrdysplasie
56	verkürzter Nasenrücken
83	Nasolabialfalten
72	schmales Lippenrot
79	Hypoplasie der Mandibel
36	hoher Gaumen
27	Trichterbrust
31	Herzfehler
50	Anomalien der Genitalien
52	Steißbeingrübchen

%	SYMPTOME
85	pathologische Handfurchen
56	Klinodaktylie V
23	Kamptodaktylie
17	Endphalangen-/Nagelhypoplasie
12	Supinationshemmung
14	Hüftluxation
44	Senkfüße

Abb. 3: Symptome des embryo-fetalen Alkohol-syndroms (nach JONES, 1973; PALMER, 1974; LÖSER, 1975; JONES u. SMITH, 1975; BIERICH, 1976; IJAIYA, 1976; MAU, 1977; %-Zahlen nach MAJEWSKI, 1976)

Die Prognose der Kinder mit efAS ist sehr ungünstig, eine erhebliche geistige und körperliche Entwicklungsstörung wird beobachtet. Da aber nicht alle Fälle den gleichen Schweregrad an Fehlbildungen aufweisen, wie auch aus der Abbildung 3 zu ersehen ist, kann man sagen, daß bei leichten bis mittelschweren Fällen eine Therapie in Form von krankengymnastischen und pädagogischen Maßnahmen durchaus angebracht ist und unter Umständen auch mit nennenswerten Erfolgen zu rechnen ist. Eine genauere Beurteilung der Entwicklung ist jedoch noch nicht möglich, da das Alter der bis heute beschriebenen Kinder höchstens 9 Jahre betrug (IJAIYA, 1976). HANSON (1976) schätzte die Häufigkeit des efAS auf 0,42-1,25 auf 1000 Schwangerschaften - dies entspricht etwa der Häufigkeit des DOWN-Syndroms - und das Risiko für das Auftreten des efAS bei starken Alkoholikerinnen auf 30-50 %, so daß man unter Umständen auch einen Schwangerschaftsabbruch bei derart disponierten Frauen in Erwägung ziehen sollte.

Ob nun beim Auftreten des efAS neben den von vielen Autoren postulierten teratogenen Aspekten, d.h. Entwicklung von Mißbildungen während der Embryonal- und Fetalzeit durch eine schädigende Noxe (Äthanol ?), die aber nur das Soma betreffen und nicht in den Keimzellen verankert sind und daher auch nicht an die Nachkommen vererbt werden können, auch noch genetische Gründe eine Rolle spielen, d.h. Entwicklung von Mißbildungen aufgrund eines genetischen (chromosomalen) Defektes in den Keimzellen der Eltern, der vererbt werden kann, sofern er nicht von vornherein letale Wirkung zeigt, war mit ein Grund dafür, die mutagene Wirkung von Alkohol zu testen.

3. Chromosomenaberrationen bei Spontanaborten

Doch nicht nur das Erscheinungsbild des efAS war Veranlassung dazu, diesen Test durchzuführen, sondern auch die sehr große Zahl von Spontanaborten mit chromosomalen Veränderungen, sowie das Auftreten numerischer Chromosomenaberrationen bei Kindern mit z.B. DOWN-, TURNER- oder KLINEFELTER-Syndrom. Welche Bedeutung die chromosomalen Veränderungen für die Entwicklung eines Kindes haben, faßte KNÖRR (1977) folgendermaßen zusammen:

"Ein zusätzliches Chromosom oder der Verlust eines Chromosoms oder auch nur eines Chromosomensegmentes während der Reifeteilung geht mit einer Steigerung oder Reduktion der Gendosis und damit graduell unterschiedlich ausgeprägten Störungen der Fruchtentwicklung einher, die als Letalfaktoren im engeren oder weiteren Sinne den unmittelbaren Untergang der Zygote oder des Embryo herbeiführen, aber auch - falls mit dem weiteren intrauterinen

Wachstum vereinbar - die Geburt eines mißgebildeten Kindes zur Folge haben."

Über das Auftreten von Chromosomenaberrationen bei Spontanaborten als Folge einer gestörten Oogenese oder Spermatogenese berichteten als erste PENROSE und DELHANTY (1961). Sie wiesen bei einem spontan abortierten Embryo einen triploiden Chromosomensatz von 69 Chromosomen pro Zellkern statt des normalen Karyotyps von 46 Chromosomen nach. Nach dieser Entdeckung begann eine Welle von cytogenetischen Untersuchungen an Spontanaborten, deren Ergebnisse im folgenden Abschnitt zusammengestellt sind.

In der BRD beläuft sich die Aborthäufigkeit auf ca. 50 %, wobei die Früh- und Spätaborte (Frühabort = Fehlgeburt in den ersten 3 - 4 Monaten der Schwangerschaft) einen Anteil von ca. 10-15 % (WIECZOREK, 1971) und die Frühhestaborte (Verlust des befruchteten Eies vor der Nidation als Folge von Entwicklungsstörungen) von etwa 35 % haben (HERTIG u. ROCK, 1959). Mindestens 1/3 aller Fehlgeburten haben ihre Ursache in chromosomalen Veränderungen, die während der Reifeteilung der Ei- und Samenzelle entstanden sind. Die genauen in der Literatur genannten Zahlen sind in der folgenden Aufstellung (Abb. 4) zusammengefaßt.

	analysierte Fälle	davon mit abnormen Chromosomen	Alter der Aborte
CARR (1971)	(?)	40 %	bis 90 Tage
	(?)	25 %	91-120 Tage
	(?)	3,5 %	mehr als 120
			Tage

	analysierte Fälle	davon mit abnormen Chrom.	Alter der Aborte
WIECZOREK (1971)	1351	30,0 %	-
GEISLER (1973)	(?)	35,0 %	Frühaborte
		ca. 10,0 %	Spätaborte
BUOË (1973)	1498	61,0 %	b. ca. 14 Wo.
KNÖRR (1977)	204	47,0 %	b. ca. 16 Wo.

Abb. 4: Literaturangaben über die Häufigkeit des Auftretens von Chromosomenaberrationen bei Spontanaborten

Welche chromosomalen Veränderungen nun im Einzelnen auftreten und welchen Stellenwert sie im gesamten Pool haben, soll durch die folgende Tabelle (Abb. 5) deutlich gemacht werden.

	BUOË (1973)	CARR (1971)	WIECZOREK (1971)	KNÖRR (1977)
Trisomie	52,00 %	45 %	51 %	45,3 %
Monosomie	15,00 %	20 % (XO)	18 % (XO)	27,4 %
Triploidie	19,80 %	-	17 %	-
Polyploidie	-	25 %	-	12,6 %
Tetraploidie	6,18 %	-	4,4 %	-
strukt.Aberr.	3,80 %	10 %	4,7 %	10,5 %
Mosaik	1,08 %	-	3,5 %	4,2 %

Abb. 5: Chromosomale Veränderungen sowie deren Häufigkeit bei Spontanaborten nach Angaben in der Literatur (Eltern chromosomal ohne Befund)

Die Tabelle zeigt, daß - alle Ergebnisse zusammengefaßt - die Trisomien mit 48,32 % den größten Anteil am gesamten Chromosomenaberrationspool haben, gefolgt von den Polyploidien mit 21,26 %, den Monosomien mit 20,1 %, den strukturellen Aberrationen mit 7,25 % und den Mosaiken mit 2,92 %.

Als Kausalfaktoren bei Spontanaborten spielen somit die Chromosomenanomalien eine wesentliche Rolle und je früher sich der Abort ereignet, desto wahrscheinlicher ist das Vorliegen eines abnormen Chromosomensatzes im Erbgut des abortierten Embryo. Sind bei den Spontanaborten die genetischen Ursachen als Letalfaktor -- Letalfaktoren sind "mendelnde Einheiten, die den Tod eines Individuums vor Erreichen des fortpflanzungsfähigen Stadiums bewirken" (HADORN, 1949/1955) -- mit ca. 30 - 60 % beteiligt, so sind bei den Lebendgeborenen, von denen 2 - 3 % pathologische Veränderungen irgendeiner Art zeigen, chromosomale Veränderungen nur bei ca. 0,5 % zu finden (BOUË, 1973).

Abgesehen von den auf familiärer erblicher Basis weitergegebenen genetischen Informationen bzw. Fehlinformationen, kommen ätiologisch bei Spontanaborten als mutationsauslösende Noxen neben hormonellen Faktoren - z.B. das noch nicht eindeutig nachgewiesene Auftreten chromosomaler Anomalien nach Einnahme von oralen Kontrazeptiva (CARR, 1971; BOUË, 1973; KNÖRR, 1977) - dem Alter der werdenden Mutter - z.B. vermehrtes Auftreten von numerischen Chromosomenaberrationen mit zunehmenden Alter der Mutter (KNÖRR, 1977) - auch noch andere exogene Wirkungsfaktoren, wie z.B. Röntgenstrahlen (MULLER, 1927; SHERIDAN, 1965; ALBERMANN et al., 1972), andere ionisierende Strahlen (TOUGH et al., 1960; BUCKTON et al., 1962; BENDER u. GOOCH, 1966) sowie viele chemische Stoffe, z.B. Medikamente (RIEGER u.

MICHAELIS, 1962; RÖHRBORN, 1965; VOGEL et al., 1967; RÖHRBORN et al., 1971) und Virusinfektionen (AULA, 1963; MAKINO et al., 1965; NICHOLS, 1966) in Frage.

4. Problemstellung

Aufgabe dieser Arbeit war es nun, einen weiteren dieser exogenen Wirkungsfaktoren im Hinblick auf seine Mutagenität zu überprüfen; und zwar die Wirkung von Alkohol auf die präovulatorische Phase der Oogenese der Maus, die mit der Methode von RÖHRBORN und HANSMANN (1971) anhand von strukturellen und numerischen Chromosomenaberrationen in der unbefruchteten M II-Oocyte erfaßt werden kann.

Es sollte die Frage beantwortet werden:

Kommt es nach der chronischen Einnahme von Alkohol zu chromosomalen Veränderungen während der präovulatorischen Phase der Oogenese der Maus, insbesondere zum vermehrten Auftreten von Aneuploidien, d.h. zum sogenannten "non-disjunction" oder "anaphase lagging"?

II. LITERATURÜBERSICHT ZUM PROBLEM "ALKOHOL UND MUTAGENESE"

Schon in den 20-iger und 30-iger Jahren versuchten zahlreiche Autoren die mutagene Wirkung von Alkohol nachzuweisen (STOCKARD u. PAPANICOLAOU, 1916/18; BLUHM, 1921 - 1937; MANN, 1923; CREW, 1926; DANFORTH, 1926; MACDOWELL, 1927/28; HANSON et al., 1928; CHAUDHURI, 1928; DAVENPORT, 1932).

So bemühte sich in den Jahren 1921 - 1937 AGNES BLUHM anhand zahlreicher Versuche nachzuweisen, daß sich Chromosomenaberrationen durch Alkohol induzieren lassen. In ihren Versuchen beurteilte sie die pränatale Mortalität nach der Wurfgröße der Tiere, die Sterblichkeit während der Stillperiode sowie Wachstumsrate, Fruchtbarkeit usw. bei Mäusen, denen zuvor Alkohol appliziert worden war. Außerdem versuchte sie nachzuweisen, daß es bei den Nachkommen alkoholisierter Tiere vermehrt zu Geburten männlicher Tiere kommt. Ihre Versuchsergebnisse wurden jedoch von anderen Autoren wie z.B. MACDOWELL (1928) in Frage gestellt, und sie mußte schließlich eingestehen, daß ihre Ergebnisse, unter Alkoholeinfluß komme es zu Chromosomenaberrationen, nur unter bestimmten Umständen zu erreichen waren (BLUHM, 1937). Man kann heute sagen, daß durch die Versuche von BLUHM keine klaren morphologisch fassbaren Effekte irgendeiner Art erzielt worden sind, und sie den Beweis, daß Alkohol mutagen ist, schuldig blieb.

STOCKARD und PAPANICOLAOU (1916/18) stellten bei ihren Versuchen mit Meerschweinchen, die sie vor der Verpaarung alkoholischen Dämpfen aussetzten, fest, daß die Nachkommen

dieser Tiere kleinere Würfe, höhere pränatale Mortalität, eine höhere Rate an Totgeburten sowie niedrigere Körpergröße und ein geringeres Gewicht aufwiesen als die Kontrolltiere. Außerdem glaubten sie, in weiteren Versuchen mit den Nachkommen der Alkoholtiere die Erbllichkeit der durch Alkohol in den Keimzellen induzierten Abnormalitäten nachgewiesen zu haben.

Dagegen wurde von MANN (1923) die mutagene Wirkung von Alkohol bei Versuchen mit *Drosophila melanogaster* verneint.

So wie MANN fanden auch HANSON et al. (1928) bei Versuchen mit Albino-Ratten heraus, daß Alkohol zwar einen retardierenden Einfluß auf die Wachstumsentwicklung der Muttertiere habe, daß dieser Effekt jedoch in keiner Hinsicht auf die Nachkommen übertragbar sei.

Auch Versuche in neuerer Zeit kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. MACHEMER und LORKE (1975) versuchten mit dem "dominant lethal test" die mutagene Wirkung von Äthanol nachzuweisen. Sie applizierten weiblichen Mäusen in der präovulatorischen Phase akut einmal 5 ml Äthanol pro Kilogramm Körpergewicht per os, verpaarten diese Weibchen mit unbehandelten Männchen und töteten sie 14 Tage nach dem Auftreten eines Vaginalpfropfes. Da das Ergebnis des Alkoholtestes sich von der Kontrollgruppe nicht unterschied, kamen sie zu dem Schluß, daß Äthanol im Hinblick auf den "dominant lethal test" nicht mutagen bei weiblichen Mäusen ist. Der Anstieg der Totimplantate war im Vergleich zur Kontrolle nicht signifikant. Weiterhin folgerten sie, daß, wenn keine letalen Effekte zu verzeichnen sind, nicht nur die Mutagenität ausbleibt, sondern auch keine negativen Auswirkungen auf die Ovulation, die Fruchtbarkeit oder

die Furchungsteilungen zu erwarten sind.

Im Gegensatz zu MACHEMER und LORKE kamen BADR und BADR (1975) zu einem positiven Ergebnis. Sie applizierten 10 Wochen alten männlichen Mäusen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen pro Tag 0,1 ml 40 % sowie 0,1 ml 60 % Äthanol per os. Die so behandelten Männchen verpaarten sie in unterschiedlichen Zeitabständen nach der Alkoholapplikation mit unbehandelten Weibchen.

Im ersten Teil ihrer Versuche beurteilten sie die Wurfgröße, d.h. wieviel Tiere pro Wurf von einem Weibchen geboren wurden, und morphologische Abnormalitäten der neugeborenen Tiere. In einem 2. Test untersuchten sie nach dem "dominant lethal test" die Anzahl der Totimplantate 13 - 15 Tage nach einem positiven Verpaarungsbefund.

Die Ergebnisse des 1. Teils zeigten einen signifikanten Unterschied in der Wurfgröße, jedoch nur bei Tieren, die mit Männchen 14 - 17 Tage nach der Alkoholgabe verpaart worden waren -- von $7,2 \pm 0,42$ Geburten in der Kontrolle auf $4,4 \pm 0,8$ Geburten im Versuch gesunken -- . Ähnliche Effekte des Alkohols sind auch schon von anderen Autoren bei Versuchen mit Meerschweinchen, Mäusen und Ratten gefunden worden (STOCKARD, 1923; MACDOWELL, 1926; ASCHKE-NASY-LELU, 1961).

Der 2. Teil der Versuche zeigte eine Zunahme der Totimplantate bei Tieren, die mit Männchen verpaart worden waren, denen 4 - 13 Tage zuvor Alkohol appliziert worden war. Die Untersuchungen des postimplantativen Todes und die Abnahme der Lebendgeburten zeigten also enge Zusammenhänge,

so daß BADR und BADR aus ihren Versuchen folgende Schlüsse zogen: Äthanol induziert in den verwandten Dosierungen auf gewisse Stadien der Spermatogenese der Maus, nämlich auf epididymale Spermatozoen und späte Spermatiden, dominant letale Mutationen, so daß eine mutagene Wirkung von Äthanol durchaus angenommen werden kann.

In einem anderen Versuch testete SCHÖNEICH (1966) die radiomimetische Wirkung von Alkohol an Mäuseascitestumoren mit Alkoholkonzentrationen von 5 - 30 % (Applikation 1 ml i.p.) anhand der Chromosomenanalyse von Tumorzellen. Obwohl bei seinen Versuchen die applizierte Alkoholmenge fast die Letalitätsgrenze erreichte, konnte er keine radiomimetische Wirkung feststellen. Er zog daraus den Schluß, daß aufgrund seiner Ergebnisse Alkohol bei Säugern keine mutagene Wirkung besitzt und somit die Gefährdung des menschlichen Erbgutes durch Alkohol gering zu sein scheint, da der Mensch verhältnismäßig viel kleinere Mengen zu sich nimmt, als sie in seinen Versuchen appliziert worden sind.

Das einzige bisher positive Ergebnis im Hinblick auf die Mutagenität von Alkohol erzielten also BADR und BADR (1975), die mutagene Veränderungen während der Spermatogenese vermuteten.

Ähnlich positive Ergebnisse konnten bisher nur MICHAELIS et al. (1959) und RIEGER et al. (1960) feststellen, jedoch nicht bei Säugetieren, sondern bei Versuchen mit der Keimpflanze *Vicia faba*.

MICHAELIS et al. (1959) z.B. ließen in ihren Versuchen unterschiedliche molare Konzentrationen von Äthylalkohol (0,001 bis 1 molar) auf die Wurzelspitzen der Keimpflanze *Vicia faba* L. var. minor einwirken. Bei der Auswertung ihrer Ver-

suche fanden sie eine Erhöhung der Aberrationsrate. Die Aberrationen umfaßten Chromatidenbrüche, Translokationen und interstitielle Deletionen sowie Duplikations-Deletionen; also Aberrationen, wie sie auch nach der Einwirkung ionisierender Strahlen und der bisher bekannt gewordenen chemischen Radiomimetika auftreten können. Da die Bruchereignisse eindeutig während der Interphase erfolgten, war für sie die radiomimetische Wirkung von Alkohol auf Wurzelspitzenmitosen von *Vicia faba* erwiesen.

Die Untersuchungsmethoden, die von den o.a. Autoren angewandt wurden, waren also der "dominant lethal test" - ein Test, mit dem postimplantative Veränderungen (Tot- oder Lebendimplantate) beurteilt werden -, sowie Untersuchungen der Wurfgröße (Lebendgeburten), der Geschlechtsverteilung und morphologischer Veränderungen nach Alkoholaufnahme der Muttertiere vor der Verpaarung. Außerdem wurden Chromosomenanalysen an Mäuseascitestumoren und an Keimpflanzen durchgeführt. Bisher fehlte jedoch eine genaue Analyse eines haploiden Chromosomensatzes vor der Befruchtung, wie sie mit der M II-Oocyten-Präparations-Methode von RÖHRBORN und HANSMANN (1971) möglich ist, die in dem vorliegenden Versuch Anwendung fand.

III. DIE OOGENESE DER MAUS

In den folgenden Abschnitten wird die Entwicklung befruchtungsfähiger weiblicher Gameten (Oogenese) der Maus aufgezeigt, wobei nur die Stadien der Oogenese ausführlicher behandelt werden, die in dem hier vorliegenden Versuch der Alkoholeinwirkung ausgesetzt waren (ausführliche Darstellung der Oogenese der Maus siehe BORUM (1961) und KUHLMANN (1970)). Die folgende Abbildung zeigt schematisch den zeitlichen Ablauf der cytologischen und biochemischen Prozesse der Oogenese der Maus.

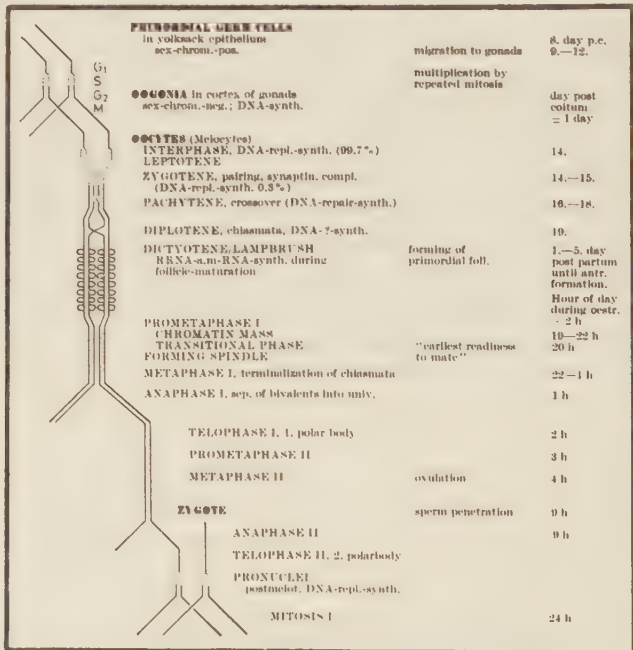


Abb. 6: Zeitlicher Ablauf der cytologischen und biochemischen Prozesse der Oogenese der Maus (aus KUHLMANN, 1970)

1. Das Prädiktyotän-Stadium

Die sexchromatin positiven primordialen Keimzellen (WITSCHI, 1957), die sich schon in 8 Tage alten Embryonen nachweisen lassen (ZAMBONI u. MERCHANT, 1973; SPIEGELMANN u. BENNETT, 1973; CHIQUOINE, 1954; JEON u. KENNEDY, 1973; MINTZ, 1960), differenzieren sich zur sexchromatin negativen Oogonie (OHNO et al., 1961). Nach wiederholten mitotischen Teilungen der Oogonien vollzieht sich die Differenzierung der Oogonie zur Oocyte. Dieser Reifungsprozeß beinhaltet am 13. - 15. Tag p.c. die letzte DNS-Synthese der Oogenese im Stadium der prämeiotischen Interphase (PETERS et al., 1962) und endet im sogenannten Leptotänstadium der Meiose, so daß am 15. Tag p.c. alle Keimzellen der weiblichen Maus in die Prophase der 1. meiotischen Teilung eingetreten sind (BORUM, 1961). In der Prophase I durchläuft die Oocyte vom 14. Tag p.c. bis zum 5. Tag nach der Geburt des Tieres (BORUM, 1961) die Stadien des Proleptotän, Leptotän, Zygotän mit einer Rest-DNS-Synthese (ca. 0,3 % nach STERN u. HOTTA, 1969), Pachytän mit dem sogenannten "crossing over" und Diplotän mit den nun sichtbaren "Chiasmata", um schließlich nach Anlagerung von Follikelzellen das interphaseähnliche Diktyotän-Stadium zu erreichen, so daß ca. am 5. Tag p.p. der sogenannte Primordialfollikel vorliegt.

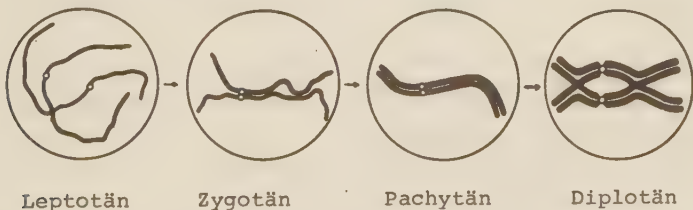


Abb. 7: Schema der Prophase der 1. meiotischen Teilung (nach RIEGER u. MICHAELIS, 1958)

2. Das Diktyotän-Stadium

Im Stadium des Diktyotän, einem sogenannten "Ruhestadium", verbleibt der Primordialfollikel bis wenige Stunden vor der Ovulation. Er durchläuft dabei eine Wachstumsphase, so daß die Oocyte ihr Volumen auf ein vielfaches vergrößert. Die Chromosomen liegen in dieser Phase als entspiralisierte diffuse Lampenbürstenchromosomen vor (BAKER et al., 1969) und sind somit sogar elektronenoptisch nicht erkennbar (TSUDA, 1965).

Während des Diktyotäns findet eine aktive RNS-Synthese statt (OAKBERG, 1968) -- ribosomale und messenger RNS --, die mit der Ausbildung der Follikelhöhle endet. Die synthetisierte RNS wird in der Oocyte für die frühen Furchungsstadien gespeichert. Die wachsende Oocyte der Maus zeigt also eine hohe RNS-Syntheserate. Da diese Aktivität bei der reifen vor der Ovulation stehenden Eizelle nicht mehr vorhanden ist, ist es verständlich, daß die Oocyte im späten Stadium der Follikelreifung eine größere Radiosensibilität (RUSSELL, 1956) sowie eine große Empfindlichkeit für induzierbare dominante letale Mutationen nach Injektion von alkylierenden Agentien zeigt (GENEROSO, 1969; RÖHRBORN, 1970) als eine Oocyte mit Reparationsfähigkeit im frühen Stadium.

Eine reife, zur Ovulation bestimmte Oocyte beendet wenige Stunden zuvor das Diktyotän und tritt in die präovulatorische Phase der Oogenese ein.

3. Das Präovulatorische-Stadium

Kennzeichnend für die präovulatorische Phase ist es, daß

die Chromosomen wieder als geformte Gebilde mikroskopisch zu erkennen sind, wie es in der folgenden Abbildung schematisch angedeutet wird.

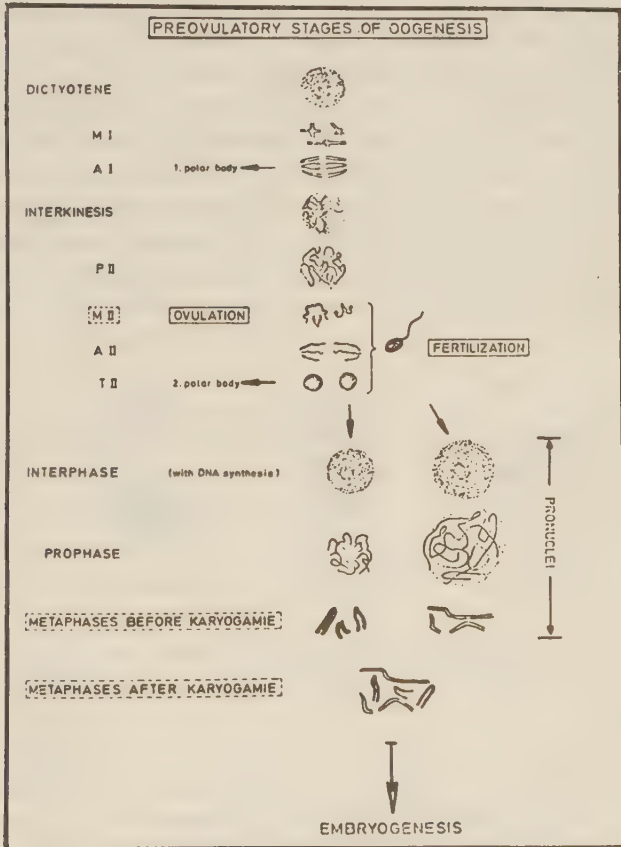


Abb. 8: Prä- und postovulatorische Stadien der Oogenese der Maus (aus RÖHRBORN, 1974)

Die zytologischen Beobachtungen zeigen zu Beginn der prä-ovulatorischen Oocytenreifung im Stadium der Prometaphase I (KUHLMANN, 1970) neben der Entwicklung der nun sichtbar werdenden Chromosomen die Auflösung der Kernmembran sowie die Ausbildung der Spindel. Außerdem konnten RÖHRBORN und HANSMANN (1971) nachweisen, daß die Chromosomen, bevor sie in die sogenannte Diakinese eintreten, noch einmal alle Prophasestadien mit lepto-, zygo-, pachy- und diplotänartigen Strukturen durchlaufen, so daß Chiasmata wieder sichtbar werden, ohne daß jedoch weitere "crossing over" stattfinden. In der nun folgenden Metaphase I werden die Spindelfasern vervollständigt und die Bivalenten ordnen sich in der Äquatorialplatte an, wobei die Chiasmata noch deutlicher in Erscheinung treten.

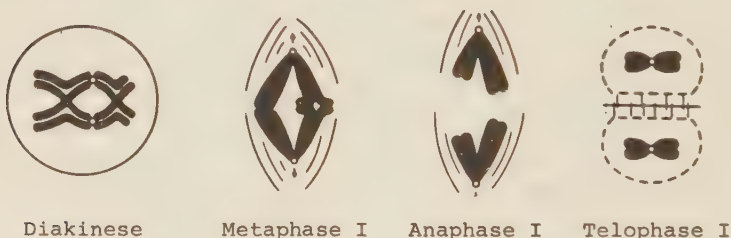


Abb. 9: Schema der weiteren Phasen der 1. meiotischen Teilung (nach RIEGER u. MICHAELIS, 1958)

Während der sich anschließenden Anaphase I, die nach KUHLMANN (1970) in eine frühe und eine späte Phase eingeteilt wird, werden die gepaarten Chromosomen getrennt, indem die nun als Univalenten bezeichneten Chromosomen mit dem Zentromerbereich voraus zu den beiden entgegengesetzten Spindelpolen wandern. Nach der Trennung bildet sich in der Mitte

der Spindel durch Verdickung der Spindelfibrillen der sogenannte Mittelkörper aus, in dessen Nähe sich zusätzlich Zellwandmaterial ablagert. Dieser Mittelkörper wird in der nun folgenden und die 1. meiotische Teilung abschließenden Telophase I vervollständigt, so daß er sich zwischen der Oocyte und dem gebildeten 1. Pol- oder Richtungskörper erstreckt (KUHLMANN, 1970). Das Ergebnis der 1. meiotischen Teilung, auch Reduktionsteilung genannt, ist eine Oocyte mit einem haploiden Chromosomensatz - bei der Maus 20 acrozentrische Chromosomen, die je aus 2 Chromatiden bestehen - der sich aus mütterlichem und väterlichem Genmaterial zusammensetzt, da in den vorangegangenen Stadien ein "Durchmischen" des elterlichen Genmaterials durch intra- und interchromosomale Rekombination gekoppelter und nicht gekoppelter Gene erfolgte (RIEGER et al., 1968).

Die nun folgende 2. Reifeteilung ist von der 1. durch das kurze Stadium der Interkinese getrennt, in dem beim Säuger und Mensch die Chromosomen zwar in interphaseartiger jedoch unvollständig entspiralisierter Form vorliegen, aber keine DNS-Synthese wie in den Interphasekernen stattfindet (HAMERTON, 1971). Nach diesem Interkinesestadium tritt die Oocyte



Metaphase II

in die Prometaphase II ein, in der sich die Chromosomen kontrahieren, um sich dann in der Metaphase II erneut in der Äquatorialebene zu formieren. Die Metaphase II ist das Stadium, in dem sich die Ovulation der Oocyten vollzieht und somit das Stadium erreicht ist, in dem nach der Methode von RÖHRBORN und HANSMANN

Abb.10: (nach RIEGER u. MICHAELIS, 1958)

(1971) eine Chromosomenanalyse möglich ist. Es werden damit chromosomale Veränderungen erfaßt, die in den

vorangegangenen Oogenesestadien aufgrund der Einwirkung schädlicher Agentien eingetreten sind und nun als Ergebnis eines mitotischen oder meiotischen "non-disjunction" Prozesses oder Chromosomenverlustes durch "anaphase lagging", d.h. verzögerte Polwanderung einzelner Chromosomen, während der prädictyotänen oder präovulatorischen Stadien zu analysieren sind. Nach Untersuchungen von EDWARDS und SEARLE (1963) und REICHERT et al. (1975) mit radioaktiven Strahlen und Untersuchungen von HANSMANN (1974) und RÖHRBORN (1970) mit chemischen Agentien erwiesen sich die präovulatorischen Phasen der Oogenese und hier besonders die Metaphase I und die Anaphase I als äußerst sensibel zur Induktion von Chromosomenaberrationen.

IV. MUTATIONSTYPEN UND DEREN ENTSTEHUNGSMECHANISMUS

In den folgenden Abschnitten werden die Mutationstypen, deren Entstehungsmechanismen und ihre Folgen für die weitere Entwicklung des werdenden Lebens vorgestellt, wobei auch hier nur die Mutationsformen aufgeführt werden, die im Versuch als Aberrationsform aufgetreten sind. Es handelt sich hierbei um strukturelle Chromosomenaberrationen wie Brüche, Deletionen, Fragmente, zentrische Fusionen, Gaps sowie um numerische Chromosomenaberrationen.

1. Mutationen und ihre Einteilung

Mutationen sind definiert als erbliche Veränderungen des genetischen Materials, die entweder spontan entstehen oder durch Umwelteinflüsse physikalischer oder chemischer Natur oder durch Viren hervorgerufen werden können. Welche Bedeutung diese Mutationen für den Menschen haben können, ist in dem folgenden Zitat aus der Präambel der Mitteilung II der Kommission für Mutagenitätsfragen der Deutschen Forschungsgemeinschaft folgendermaßen zusammengefaßt:

"Mutationen sind für den Menschen eine sehr ernste Gefahr. Ihre Auswirkungen reichen von Fertilitätsstörungen, embryonalem und postnatalem Tod über mehr oder weniger schwere Mißbildungen, Erbkrankheiten unterschiedlichsten Schweregrades bis zu genetisch bedingten Variationen im Bereich des Normalen. Die Übergänge von Letalmutationen zu Mutationen, die Erbkrankheiten verursachen, sind fließend. Darüber hinaus geht von den vielfältigen Krebserkrankungen wahrscheinlich ein Teil auf mutative Veränderungen von Körperzellen des Erkrankten zurück" (METHODEN ZUR MUTAGENITÄTS-PRÜFUNG 5, 1971).

Mutationen können sich an den Chromosomen in vielfältiger Form ausprägen, so daß eine Einteilung der verschiedenen Mutationstypen zum besseren Verständnis angebracht ist. RÖHRBORN (1970) teilte sie folgendermaßen auf:

1. GENMUTATIONEN - Basensubstitution

- Deletion einzelner Basen
- Insertionen einzelner Basen
- sowie andere genbezogene Mutationstypen

2. CHROMOSOMENABERRATIONEN

- strukturelle Chromosomenaberrationen
 - lokale Achromasien (Gaps)
 - Chromosomen- u. Chromatidbrüche
 - multiple Fragmentationen von Chromosomen
 - Chromosomenmutationen -- Duplikation
 - Inversion
 - Translokation
 - Deletion
- Genommutationen
 - alle numerischen Veränderungen der Chromosomen
 - Polyploidie
 - Aneuploidie --- Monosomie
 - Trisomie

Die Mutationstypen, die im vorliegenden Versuch analysiert werden konnten, gehören der zweiten Gruppe - Chromosomenaberrationen - an.

2. Strukturelle Chromosomenaberrationen

Strukturelle Chromosomenaberrationen treten nach der "Bruch-Reunions-Hypothese" (STADLER, 1932; SAX, 1940; RIEGER u.

MICHAELIS, 1967) als Folge von Brüchen im Chromosom auf, die entweder spontan eintreten oder experimentell induziert werden. Zu den experimentell mutationsauslösenden Faktoren können exogene Noxen wie Röntgenstrahlen und UV-Licht sowie chemische Substanzen als auch Virusinfektionen gehören.

Die spontan oder induziert aufgetretenen Chromosomenbrüche können sich an den Bruchstellen wieder vereinigen und den ursprünglichen Zustand wieder herstellen - man spricht dann von Restitution (DARLINGTON u. UPCOTT, 1941) -, sich durch den sogenannten Reunionsprozeß an den Bruchflächen in neuer Ordnung wieder vereinigen, so daß inter- und intrachromosomale Strukturveränderungen entstehen (RIEGER u. MICHAELIS, 1967), oder bei nicht stattgefundenener Reunion durch Stabilisierung der Bruchenden in der zu analysierenden M II-Oocyte als Deletion, als Bruch mit noch vorhandenem dislozierten Chromosomenendstück sowie als Fragment (freiliegendes, azentrisches Chromosomenstück) mit nicht zuzuordnendem Chromosom auftreten. Das folgende Schema faßt die Vorstellungen der "Bruch-Reunions-Hypothese" noch einmal übersichtlich zusammen.

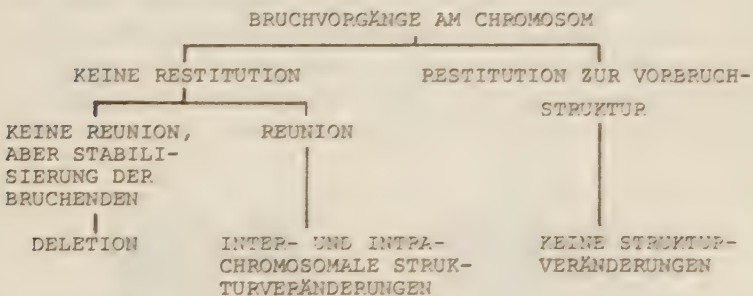


Abb. 11: Chromosomenbruch und seine Folgen
(nach RIEGER u. MICHAELIS, 1967)

2,1. Deletion bzw. Defizienz

Eine Deletion und Defizienz stellt einen Strukturumbau dar, der auf das Einzelchromosom beschränkt ist und als interkalärer (PAINTER u. MULLER, 1929) bzw. terminaler (BRIDGES, 1917) Chromosomenverlust einschließlich des darin enthaltenen Bestandes an genetischer Information zu verstehen ist. Für das Auftreten einer Deletion sind zwei Brüche am gleichen Chromosomenarm notwendig, wobei die Bruchstellen mit Ausfall des dazwischenliegenden Chromosomenstückes wieder verheilen. Tritt nach einem eingetretenen Bruch keine Vereinigung der Bruchstellen ein und geht ein mehr oder weniger großes Endstück eines Chromosoms verloren, so entsteht eine endständige Defizienz. Sowie die Deletion als auch die Defizienz führen zu einer Verkürzung eines Chromosomenarmes und sind somit bei der mikroskopischen Analyse im Stadium der M II nicht zu unterscheiden. Die abgetrennten Chromosomenendstücke sind im mikroskopischen Bild als zentrische (mit Zentromer) und als azentrische Fragmente zu identifizieren. Die azentrischen Fragmente können in der Mitose und Meiose aufgrund des fehlenden Zentromers - die Spindelfasern finden keinen Ansatzpunkt - verloren gehen. Da damit der Verlust an genetischem Material verbunden ist, kann dieser Zustand bereits im heterozygoten Stadium als Letalfaktor gewertet werden (RIEGER u. MICHAELIS, 1967). Der Entstehungsmechanismus einer Deletion oder Defizienz ist in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt.

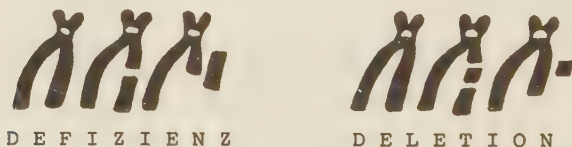


Abb. 12: Entstehungsmechanismus einer Defizienz bzw. Deletion

2,2. Zentrische Fusion bzw. Satellitenassoziation

Die zentrische Fusion stellt eine Translokationsform dar, -- eine Translokation ist die Umlagerung von Chromosomen-segmenten zwischen zwei verschiedenen Chromosomen oder innerhalb eines Chromosoms --, bei der zwei akrozentrische Chromosomen im Zentromerbereich oder im zentromernahen Heterochromatin nach dem Auftreten von Bruchereignissen fusionieren. Aus zwei akrozentrischen Chromosomen entsteht durch diese Fusion ein neues meta- oder submetazentrisches Chromosom, während die abgebrochenen Chromosomenstücke häufig verloren gehen oder auch ein neues Chromosom bilden. Aufgrund der fehlerhaften Verteilung von Chromosomenmaterial durch eine derartige Fusion kommt es gehäuft zu körperlichen Fehlbildungen oder zu Aborten, so daß auch die zentrische Fusion als Letalfaktor angesehen werden muß (COURT BROWN, 1967).

Was nun die Frage zentrische Fusion oder Satellitenassoziation betrifft, die sich bei der Auswertung von M II-Oocyten stellt, so ist darauf bei der in diesem Versuch angewandten Färbemethode keine Antwort zu geben, da man eine Entscheidung, ob nun eine Fusion oder eine Assoziation vorliegt, im lichtmikroskopischen Bild nicht treffen kann. Hierfür ist die sogenannte "Goldbedampfungsmethode" besser geeignet.



Abb. 13: Entstehungsmechanismus einer zentrischen Fusion

2,3. Achromatische Lücken (Gaps)

Achromatische Lücken zeigen sich im mikroskopischen Bild als ungefärbte, Feulgen-negative, mehr oder weniger große Regionen, die eine Chromatide oder auch beide betreffen können. Eine echte Diskontinuität innerhalb des Chromosoms scheint in dieser Region nicht gegeben zu sein. Da noch keine Einigkeit darüber besteht, welche Veränderungen im Chromosom an diesen achromatischen Lücken entstehen, -- EVANS (1963) sieht in einem Gap eine lokale Entspiralisierung oder einen DNS-Verlust; MORRISON (1953) erkennt in einem Gap einen eventuellen Restitutionsort; NEBEL (1936/37), SAX (1938) und CARLSON (1938) interpretieren Gaps als Halbchromatidenbrüche -- und bisher nur BRØGGER (1971) und SCHEID u. TRAUT (1971) durch elektronenmikroskopische Untersuchungen nachweisen konnten, daß innerhalb eines Gaps noch Chromatidenfibrillen vorhanden sind, und somit noch nicht geklärt ist, ob ein Gap als brauchbarer Indikator mutagener Wirkung anzusehen ist, werden die im Versuch aufgetretenen Gaps bei der Aufstellung der strukturellen Aberrationen zwar erwähnt, jedoch bei der Berechnung der Aberrationsrate nicht berücksichtigt; es konnte im Versuch auch nur ein Gap analysiert werden.

3. Genommutationen

Während der mitotischen und meiotischen Zellteilung kann es zu zahlenmäßigen Anomalien in der Zusammensetzung des Chromosomensatzes kommen. Eine derartige Fehlverteilung der Chromosomen stellt eine Genommutation dar, die in der Anaphase der Zellteilungen durch sogenanntes "non-disjunction" oder durch "anaphase lagging" als Aneuploidie, wobei es sich um eine Verminderung einzelner Chromosomen eines diploiden Satzes (Hypoploidie, Monosomie) oder um eine Vermehrung (Hyperploidie, Trisomie) handeln kann, und als Polyploidie

auftreten kann, bei der die Reduktionsteilung nicht abgeschlossen wird, und es somit zu einer Vermehrung des haploiden Chromosomensatzes als Triploidie oder Tetraploidie kommen kann. Tritt in einem hyperploiden Chromosomensatz ein Chromosom auf, das keinem anderen Chromosomenpaar des Karyotyps zugeordnet werden kann, so wird dies als Extrachromosom bezeichnet, und man spricht dann von einer Pseudoploidie (WIECZOREK, 1971).

Der Vorgang des mitotischen und meiotischen Non-disjunction stellt den wichtigsten genetischen Mechanismus bei der Entstehung von Aneuploidien dar. Hierbei kommt es zu keiner Trennung homologer Chromosomen während der Anaphase, so daß dieses Chromosomenpaar zusammenbleibt und gemeinsam zu einem Pol wandert. Das Resultat dieser Kernteilungsstörung ist eine Keim- oder Somazelle, die ein Chromosom zuviel (Trisomie) und eine andere, die ein Chromosom zuwenig (Monosomie) hat. Auf der folgenden Abbildung ist dies noch einmal schematisch dargestellt.

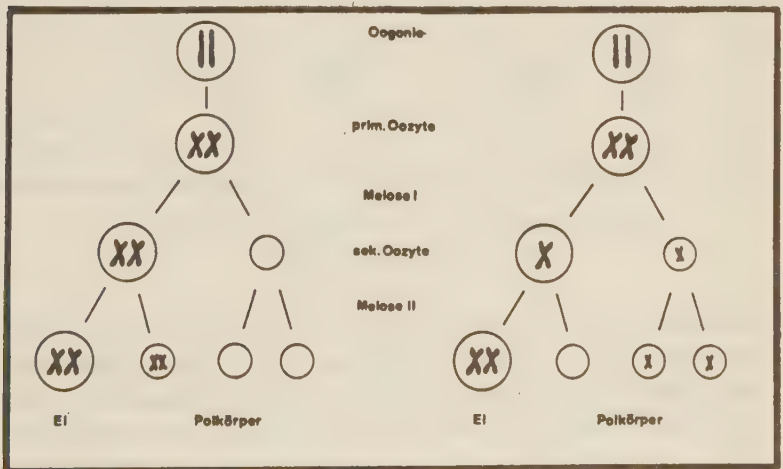


Abb. 14: Meiotisches Non-disjunction
(aus WIECZOREK, 1971)

Der zweite Mechanismus, der zum Auftreten von numerischen Aberrationen führen kann, ist das sogenannte "anaphase lagging", d.h. eine verzögerte Anaphasebewegung. Daß es bei diesem "anaphase lagging" hauptsächlich zu Monosomien kommt, erklärt sich durch den genauen Ablauf in der Anaphase. Es kommt hierbei zwar zur Trennung der homologen Chromosomenpaare, jedoch bleibt bei der Wanderung zu den Polen ein Chromosom zurück und wird somit nicht von den Kernmembranen der sich neubildenden Zellen miteingeschlossen und geht verloren. Das Ergebnis ist eine Zelle mit normalem Chromosomensatz und eine Zelle, bei der ein Chromosom fehlt. Wird dieses langsame Chromosom von der Kernmembran der Zelle miteingeschlossen, in der sich schon der homologe Partner befindet, kommt es gelegentlich auch zum Auftreten von Trisomien.

Der Ablauf des "anaphase lagging" ist in der folgenden Abbildung noch einmal schematisch dargestellt.



Abb. 15: Ablauf des "anaphase lagging"

(nach WIECZOREK, 1971)

Welche Bedeutung dieses Auftreten von numerischen Chromosomenaberrationen hat, zeigt, daß bei ca. 70 % aller Aborte (WIECZOREK, 1971) eine Aneuploidie als auslösender Faktor in Frage kommt, und somit eine Störung im Gleichgewicht der Genwirkung frühzeitig als Letalfaktor zum Tragen kommen

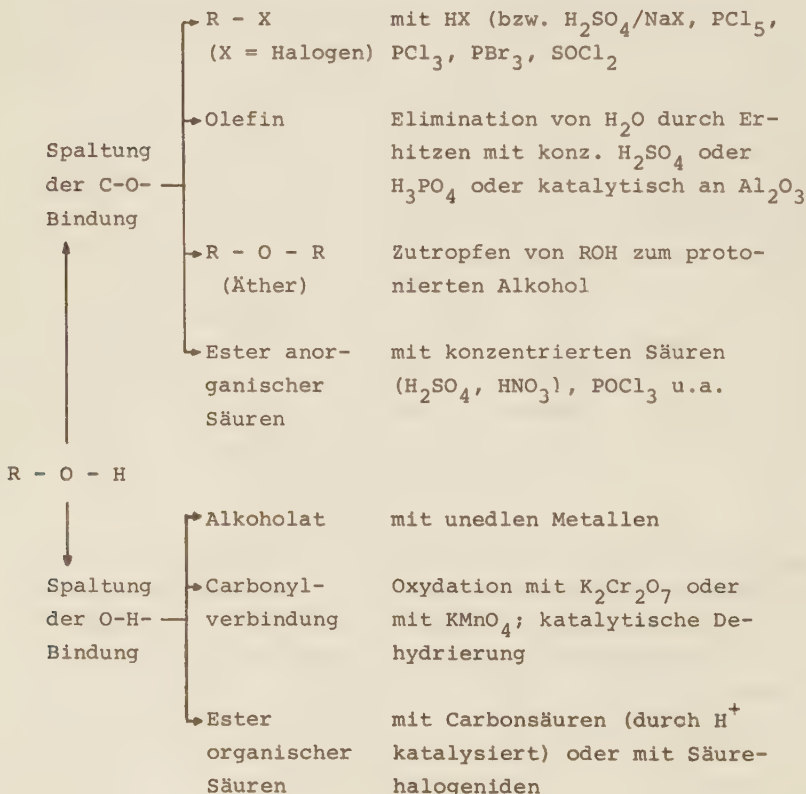
kann. Kommt es trotzdem zum Austragen der Frucht, so kann es z.B. zum Auftreten des sogenannten "DOWN-Syndroms" durch Trisomie 21 ($47,XX + G$ o. $47,XY + G$), zum "PÄTAU-Syndrom" durch Trisomie 13 ($47,XX + D_1$ o. $47,XY + D_1$), zum "EDWARDS-Syndrom" durch Trisomie 18 ($47,XX + E$ o. $47,XY + E$), zum "TURNER-Syndrom" durch X-Monosomie ($45,XO$) oder zum "KLINE-FELTER-Syndrom" durch Trisomie der Geschlechtschromosomen ($47,XXY$) kommen.

V. MATERIAL UND METHODEN

1. Testsubstanz Äthanol

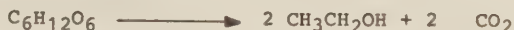
1,1. Chemische Struktur

Alkohol, ein Monosubstitutionsprodukt des Wassers, ist eine farblose Flüssigkeit, die einen charakteristischen Geruch aufweist und aufgrund der funktionellen Gruppen (R-O-H) alkoholspezifische Reaktionen zeigt (nach CHRISTEN, 1970):



Beim Erhitzen an der Luft tritt eine vollständige Verbrennung zu CO_2 und H_2O ein.

Der einwertige Alkohol "Äthanol" ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) wird synthetisch aus Äthylen oder durch Vergärung von Traubenzucker gewonnen:



Da durch diesen Prozeß kein 100 % reines Äthanol gewonnen werden kann, muß durch Destillation und Entfernung des restlichen Wassers mittels wasserfreiem CuSO_4 oder CaO eine endgültige Reinigung durchgeführt werden.

Man erhält somit ein Produkt, das bei $78,3^\circ\text{C}$ siedet, einen Schmelzpunkt bei -114°C hat und als Lösungsmittel sowie für zahlreiche Synthesen eine große Bedeutung hat. Äthanol kann durch Zusatz von 1 - 2 % Benzol, Aceton, Pyridin oder Campher vergällt, d.h. ungenießbar gemacht werden.

1,2. Metabolismus

Die Vorgänge, die sich nach der Aufnahme von Äthanol im Organismus des Menschen abspielen, lassen sich in drei Phasen gliedern: Resorption, Verteilung und Elimination.

Die Alkoholresorption ist ein passiver Vorgang, d.h. es findet eine freie Diffusion aus dem Gastrointestinaltrakt in das Blut statt. Diese beginnt schon im Mund und Ösophagus, setzt sich im Magen fort (ca. 20 %) und wird schließlich in den oberen Dünndarmabschnitten vollendet. Die Diffusionsgeschwindigkeit wird durch das Konzentrationsgefälle bestimmt, das zwischen den beiden Austauschflächen Darm-Blut herrscht. Die Resorption ist weiterhin von der Alkoholkonzentration und der Mucosadurchblutung abhängig; sie kann

durch gleichzeitige Nahrungseinnahme verlangsamt werden. Die Alkoholkonzentration im Blut - das Blutspiegelmaximum wird nach ca. 45 - 90 Minuten erreicht - ist abhängig von:

1. Menge des aufgenommenen Alkohols
2. Geschwindigkeit der Resorption
3. Körpergewicht bzw. Menge des Körperwassers
4. Geschwindigkeit der Alkoholelimination

(KUSCHINSKY, 1974)

In der der Resorption folgenden Verteilungsphase gelangt der Alkohol aus dem intravasalen in den interstitiellen und intrazellulären Wasserraum. Es findet eine gleichmäßige Verteilung des Alkohols im gesamten Körperwasser statt. Dies hat zur Folge, daß bei einer graviden Frau auch der Wasserraum des Feten mit Alkohol angereichert wird, da Alkohol die Placentaschranke ungehindert passieren kann. Außerdem kann man davon ausgehen, daß der Alkohol in Hoden und Ovar praktisch in gleicher Konzentration vorhanden ist wie im Blut.

Die nach der Aufnahme von Alkohol sofort einsetzende Eliminationsphase bewirkt einen allmählichen Abfall der Blutalkoholkonzentration. Dies geschieht zu 90 % durch vollständige Oxydation zu Kohlensäure und Wasser. Nur ein geringer Prozentsatz wird durch die Nieren (0,1 - 5 %), durch die Lungen (0,5 - 10 %) oder im Schweiß unverändert ausgeschieden. Bei stillenden Frauen erscheinen nur Spuren (weniger als 1 %) in der Milch. Die pro Zeiteinheit verbrannte Menge Alkohol ist für die einzelne Person ziemlich konstant. Sie beträgt in der Stunde für den Mann 0,1 g/kg und für die Frau 0,085 g/kg (KUSCHINSKY, 1974). Von Fall zu Fall können diese Werte um ± 30 % schwanken. Die Blutalkoholwerte sinken somit um 0,15 - 0,2 ‰ in der Stunde ab, d.h. 170 - 180 g Alkohol

können pro Tag abgebaut werden (von WARTBURG u. AEBI, 1970). Der Abfall des Blut-Äthanol-Spiegels erfolgt also zeitlinear.

Die Oxydation von Äthanol erfolgt in drei Stufen:



Die in der Leber lokalisierte Oxydation von Äthanol zu Acetaldehyd wird durch das Enzym Alkoholdehydrogenase (ADH) katalysiert. Dabei wird Wasserstoff vom Substrat auf das Coenzym NAD übertragen. Diese ADH-Reaktion ist der schritt-begrenzende Abschnitt für die Gesamtoxydation.

In der zweiten Oxydationsstufe wird der gebildete Acetaldehyd zu Acetat bzw. Acetyl-Coenzym A umgewandelt. Dieser Schritt kann durch zwei Dehydrogenasen (Aldehyd- bzw. Glycerinaldehyd-3-P-dehydrogenase) sowie durch zwei Oxydasen (Aldehyd- bzw. Xanthinoxydase) katalysiert werden.

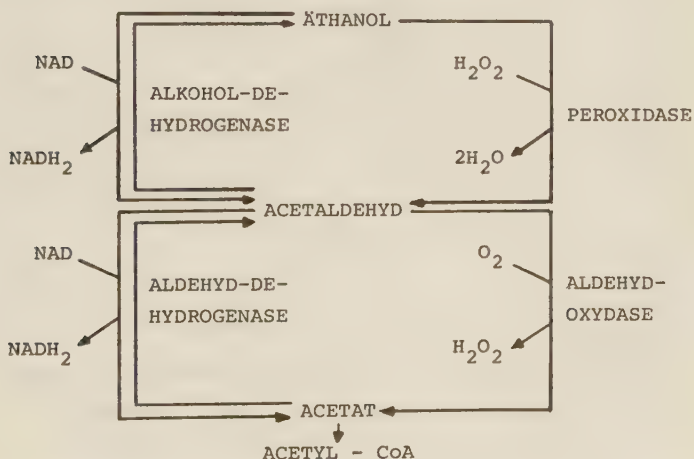


Abb. 16: Reaktionsschritte beim Abbau von Äthanol
(nach BUDDECKE, 1971)

1,3. Wirkungen auf den menschlichen Organismus

Alkoholische Getränke, in kleinen oder mäßigen Dosen getrunken, führen bei vielen Menschen, besonders dann, wenn sie sich in einer für sie geeigneten Umgebung befinden, zu einer Belebung der motorischen und psychischen Funktionen. Dabei kommt es zu einer Abnahme der Konzentrations- und Leistungsfähigkeit sowie einer Verminderung der Selbstkritik, wohingegen das Selbstbewußtsein erhöht wird. Zunehmen der Alkoholkonsum führt weiterhin zu einer Verlangsamung der Reaktionszeit; was sich besonders bei Autofahrern als gravierendes Gefahrenmoment bemerkbar macht. Eine anschauliche Darstellung der Wirkungen des Alkohols in Abhängigkeit von der getrunkenen Menge und somit vom Promillegehalt des Blutes zeigt die folgende Abbildung.

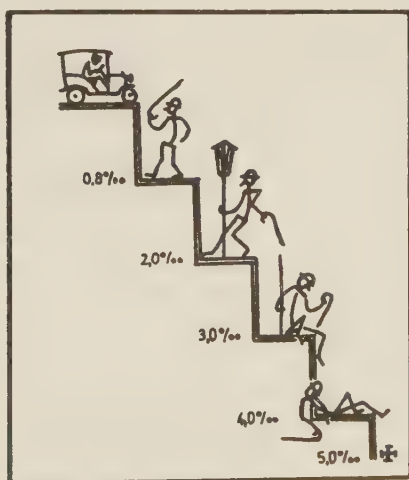


Abb. 18: Alkohol im Blut (nach
LEMBECK u. SEWING, 1966)

Bei einem Blutalkoholgehalt von 0,5 - 1 ‰ sind leichte Alkoholwirkungen feststellbar, die bei 2 - 2,5 ‰ schon als schwere Intoxikation sich bemerkbar machen können, um dann bei 3, 5 - 5 ‰ zu Vergiftungserscheinungen mit z.T. tödlichem Ausgang zu führen (KUSCHISNKY, 1974). Psychopharmaka, Hypnotika und Antihistaminika können die Alkoholwirkungen bei gleichzeitiger Einnahme noch beträchtlich verstärken.

Die Alkoholwirkungen auf den Kreislauf beruhen wie auch die psychischen und motorischen Veränderungen auf einem Angriff des Alkohols in ZNS. Die Hautgefäße werden erweitert und damit die Wärmeabgabe erhöht; so daß die allgemein angenommene wärmende Wirkung des Alkohols ein Trugschluß ist und dadurch viele Alkoholiker in den kälteren Jahreszeiten beim Übernachten unter freiem Himmel an Unterkühlung sterben.

Weiterhin bewirkt Alkohol eine gesteigerte Diurese, die durch eine Hemmung der Vasopressininkretion des HHL bei ansteigenden Blutalkoholkonzentrationen ausgelöst wird.

Eine regelmäßige Zufuhr von Alkohol führt häufig über das Stadium der Gewöhnung, in dem sich eine Abnahme der pharmakologischen Wirkungen zeigt, zur psychischen Abhängigkeit und schließlich zum Krankheitsbild des chronischen Alkoholismus. Dieses Krankheitsbild kann durch eine Steigerung der Fettsäuresynthese, eine Hemmung der Fettsäureoxydation, eine vermehrte Lipolyse im Fettgewebe und eine resultierende Synthesesteigerung der endogenen Triglyceride bzw. Prä- β -Lipoproteine sowie möglicherweise auch eine Hemmung der Lipoproteinlipase zum sogenannten ZIEVE-Syndrom beim Alkoholismus mit der Kombination von Ikterus, Hyperlipämie und hämolytischer Anämie führen.

Da Alkohol auch lokal reizend und hyperämisierend auf die Haut und Schleimhäute wirkt, sind nicht selten nach chronischer Zufuhr alkoholischer Getränke eine Pharyngitis und Gastritis die Folge.

Zusammenfassend kann man sagen, daß fast alle Alkoholkranken eine chronische Magenschleimhautentzündung aufweisen, etwa 1/4 ein Magengeschwür, 1/5 bis 1/3 leichtere oder schwerere Veränderungen der Bauchspeicheldrüse, bis zu 70 % Leberschäden wie Fettleber und Leberzirrhose, etwa 2/3 periphere Nervenleiden und über 80 % Mangelerscheinungen des Vitamin-B-Komplexes, die u.a. eine wesentliche Rolle in der Entstehung der zentralnervösen Erscheinungen der Alkoholkrankheit spielen (BATTEGAY et al., 1970). Die Störungen der Gehirnfunktionen können als sogenanntes WERNICKE-KORSAKOW-Syndrom, als akute Alkoholhalluzinose und vor allem als Delirium tremens zum Ausdruck kommen.

Die Heilung der Alkoholsucht ist ein schwieriges Problem, da sich nach Entziehungskuren sehr schnell Rezidive zeigen; denn schon ein kleiner "Schluck aus der Flasche" kann alle ärztlichen Bemühungen wieder zunichte machen. Völlige Abstinenz ist daher oberstes Gebot jedes Alkoholsüchtigen, der auf Heilung hofft.

2. Versuchsaufbau und Methode

2,1. Versuchstiere

Für den vorliegenden Versuch wurden 3 - 12 Wochen alte weibliche Mäuse des Inzuchtstammes "NMRI" verwandt. Als Versuchsobjekt ist gerade die Maus bestens geeignet. Sie ist ein Säuger mit einer kurzen Generationsfolge, zeigt in der Fortpflanzung große Würfe, ist leicht zu halten und somit nicht

allzu kostenintensiv, und nicht zuletzt hat die Maus eine dem Menschen ähnliche Physiologie.

Die Tiere wurden im Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität Düsseldorf bei einer Temperatur von ca. 24°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40 - 50 %, sowie in einem konstanten Tag-Nacht-Rhythmus mit einer Dunkelperiode von 18.00 bis 6.00 Uhr gehalten. Um die zur Analyse notwendigen M II-Oocyten zu erhalten, d.h. zur genauen Feststellung einer stattgefundenen Ovulation, wurden die weiblichen Tiere mit vasktomierten Männchen des gleichen Stammes verpaart, deren Alter ca. 10 - 16 Wochen betrug.

2.2. Vasektomie der männlichen Tiere

Die Vasektomie der zur Verpaarung notwendigen männlichen Tiere wird folgendermaßen durchgeführt:

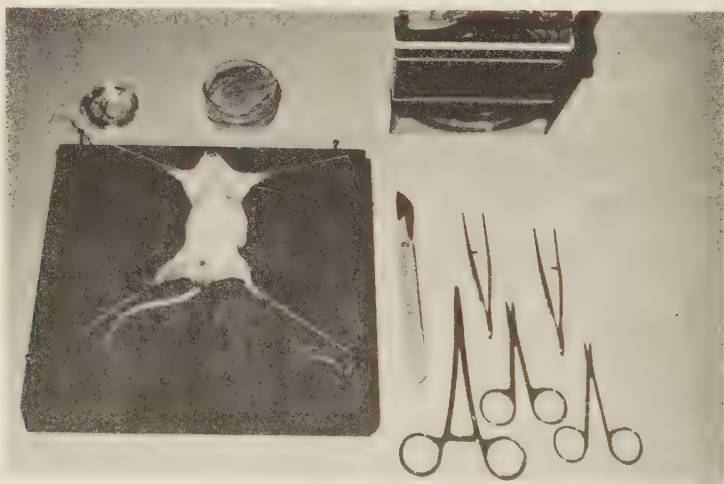


Abb. 19: Präparationsanordnung zur Vasektomie einer männlichen Maus

Ein etwa 10 Wochen altes Männchen wird mit "Nembutal" nar-
kotisiert (Pentobarbital-Natrium 50 mg/ml; die angesetzte
Lösung besteht aus 9 ml Aqua dest. und 1,2 ml Nembutal;
Dosis 0,01 ml/g KG i.p.). Danach eröffnet man mit einem
kleinen Schnitt die Bauchhöhle des Tieres und sucht den
linken und rechten Hoden mitsamt dem Samenleiter (Vas de-
ferens) auf.

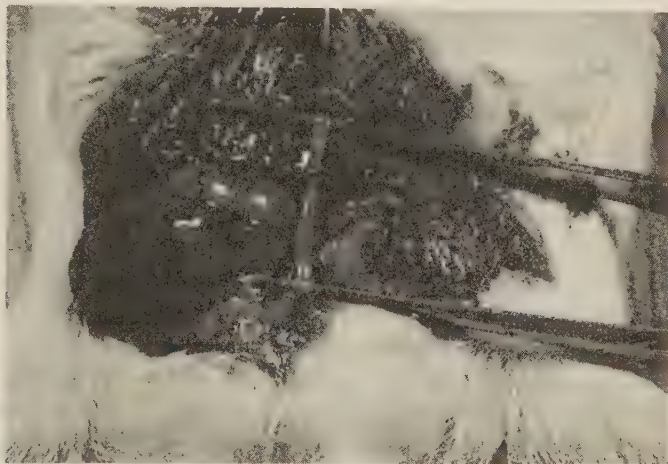


Abb. 20: Präparationssitus einer männ-
lichen Maus zur Vasektomie;
rechter Hoden mit zugehörigem
Samenleiter (Vas deferens)

Dieser wird zweimal abgebunden und zwischen den Abbindungs-
stellen durchtrennt. Nachdem die Hoden wieder in ihre ei-
gentliche Position rückverlagert wurden, wird die Bauch-
höhle mit mehreren Nahtstichen geschlossen. Auf diese Weise
erhält man ein verpaarungsfähiges, aber nicht mehr zeugungs-
fähiges Männchen, das man nach etwa 2 Tagen zur Verpaarung
verwenden kann.

2,3. Versuchsbedingungen

2,3,1. Alkoholapplikation

Zum Versuch der chronischen Gabe von Alkohol wurden insgesamt 231 weibliche Tiere im Alter von 3 Wochen mit einem Gewicht bei Versuchsbeginn von etwa 15 g in 6 Versuchsserien zu je 20 - 47 Tieren angesetzt, die im Abstand von jeweils einer Woche in Tierkästen zu je 3 oder 4 Tieren über 50 Tage und mehr als Trinkwasser 15 % Äthanol bekamen. Der Alkohol wurde in besonders ausgewählten Trinkflaschen abgefüllt. Pro Woche wurde je Flasche 210 g 15 % Äthanol abgewogen; eine Menge, mit der in den letzten Versuchswochen 4 Tiere ca. 5 - 6 Tage auskamen. Die wöchentlichen Wägungen dienten gleichzeitig dazu, festzustellen, wieviel Alkohol von jedem Tier während der Versuchszeit getrunken worden war, so daß somit eine mehr oder weniger genaue Dosisberechnung durchgeführt werden konnte.

Um festzustellen, wieviel Äthanol in den Trinkflaschen der Tiere während der Versuchszeit pro Tag verdunstete, wurden zwei Trinkflaschen jeweils gleichzeitig mit den anderen Flaschen mit der gleichen Menge Alkohol gefüllt und dann die verdunstete Menge Alkohol durch Wägungen festgestellt.

2,3,2. Oogenesestadien mit Alkoholeinwirkung

Während der 50-tägigen Trinkphase und der sich anschließenden Verpaarungszeit konnte der verabreichte Alkohol auf folgende Stadien der Oogenese der weiblichen Maus als schädigendes und eventuell Mutationen induzierendes Agens seine Wirkung entfalten:

Dictyotän -- meiotische Diakinese -- Prometaphase I --

Metaphase I -- Anaphase I -- Telophase I -- Interkinese --
Prophase II -- Metaphase II

Eine genaue Beschreibung dieser Stadien der Oogenese ist im Kapitel II. wiedergegeben. Die folgende Abbildung zeigt schematisch den zeitlichen Ablauf dieser Stadien.

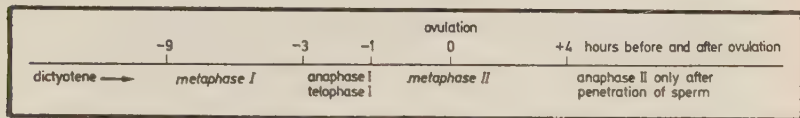


Abb. 21: Präovulatorische Oogenesestadien der Maus (nach RÖHRBORN, 1970)

2,3,3. Verpaarungsschema

Nach einer Trinkperiode von 50 Tagen wurden die weiblichen Tiere im Verhältnis 4 : 1, 3 : 1, 2 : 1 und 1 : 1, je nachdem wieviele Weibchen die Alkoholperiode in den einzelnen Tierkästen überlebt hatten, mit den vorher vasektomierten Böcken verpaart, die ca. eine Woche vor Verpaarungsbeginn auch 15 % Äthanol als Trinkwasser bekamen, um sie an die neue Flüssigkeit zu gewöhnen.

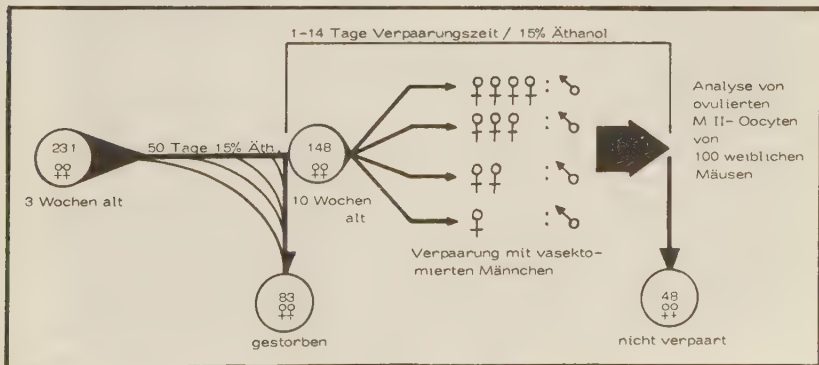


Abb. 22: Verpaarungsschema der Versuchstiere

Fand zum Zeitpunkt des Eisprungs eine Kopulation statt, so bildete sich bei den Weibchen ein Vaginalpfropf aus (PICKWORTH et al., 1968). Die Zyklusdauer einer Maus wird von SNELL (1956) mit 5 Tagen und von FOWLER u. EDWARDS (1957) mit 4,8 Tagen angegeben. Diese Werte stimmen in etwa mit denen überein, die bei den in diesem Versuch präparierten Weibchen festgestellt werden konnten.

2,4. Oocytenpräparationsmethode

Um die für die Chromosomenanalyse notwendige Metaphase II zu erhalten, wurden die weiblichen Tiere und deren Oocyten nach dem Präparationsschema von RÖHRBORN und HANSMANN (1971) präpariert. Diese cytogenetische Untersuchungsmethode liefert eine genaue Aussage über strukturelle und numerische Veränderungen des haploiden Chromosomensatzes einer unbefruchteten M II-Oocyte, die durch ein mutagenes Agens induziert wurden oder spontan entstanden sind.

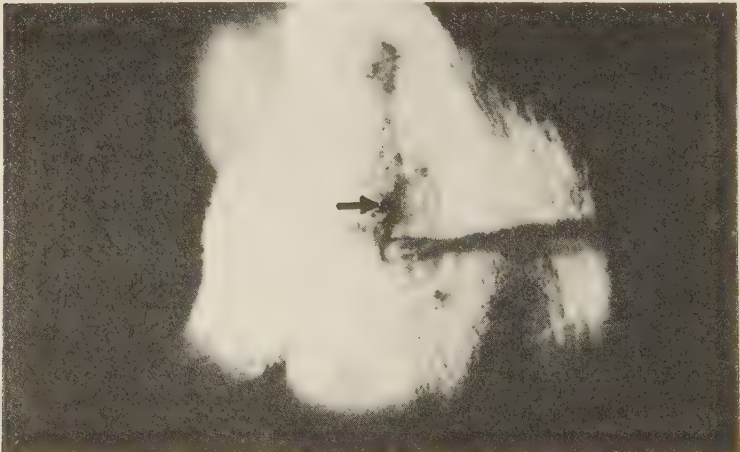


Abb. 23: Prüfung des Vaginalpfropfes (→)
mittels einer Sonde

Die 10 - 12 Wochen alten weiblichen Mäuse ("NMRI") werden, sofern sich bei der Kontrolle um 9⁰⁰ Uhr ein Vaginalpfropf nachweisen läßt (siehe Abb. 23), gegen 10⁰⁰ Uhr mit Äther getötet. Nach Eröffnen der Bauchhöhle werden die Ovarien mit den Eileitern freipräpariert und ein Teil des Ovars samt Eileiter herauspräpariert.

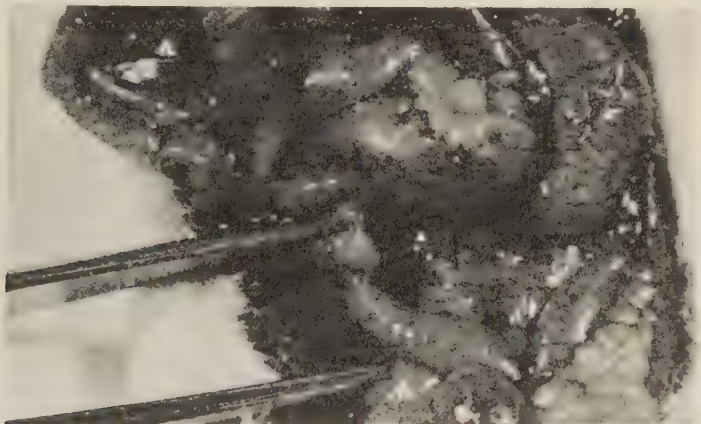


Abb. 24: Präparationssitus einer weiblichen Maus zur Entnahme von Ovar und Eileiter (→)

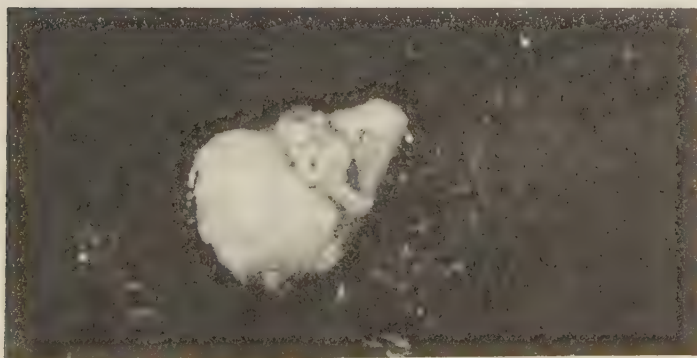


Abb. 25: Präparat (Ovar und Eileiter) zur Oocytenpräparation

Dieses Präparat (Abb. 25) wird in ein Blockschälchen mit HANKS-Lösung überführt, -- HANKS BALANCED SALT SOLUTION --, die zuvor in einem Wasserbad auf 37°C erwärmt wird. Unter dem Binokular wird die Ampulle des Eileiters aufgesucht, die als hyaliner Bereich des Oviduktes gut zu erkennen ist, und in der sich die zur weiteren Präparation notwendigen Oocyten befinden.



Abb. 26: Ampulle des Eileiters
einer weibl. Maus

Die Ampulle wird mit einer spitzen Nadel eröffnet, so daß die Oocyten herausquellen können. Die nun freiliegenden, noch von der Corona radiata umgebenen Oocyten werden dann mit einer Pinzette in ein Blockschälchen mit KINETIN überführt -- HYALURONIDASE, 150 I.E. pro Ampulle, gelöst in 1 ml Ringerlösung --. Der Zweck der Kinetinbehandlung liegt darin, daß durch das Ferment Hyaluronidase die Corona radiata aufgelöst wird und somit eine von allen störenden

Substanzen befreite Oocyte zur weiteren Präparation vorliegt. Die Kinetinbehandlung dauert bei Zimmertemperatur ca. 30 Minuten. Nach dieser Zeit werden die Oocyten unter dem Binokular mit Hilfe einer über einer Gasflamme äußerst fein ausgezogenen Pipette aufgesaugt und in ein Blockschälchen mit 1,5 % Natrium-Citrat-Lösung überführt. Diese hypotone Behandlung bei ca. 4°C im Kühlschrank dient u.a. der Quellung der Oocyten, so daß sie bei der später erfolgenden Fixation besser zum Platzen gebracht werden können.

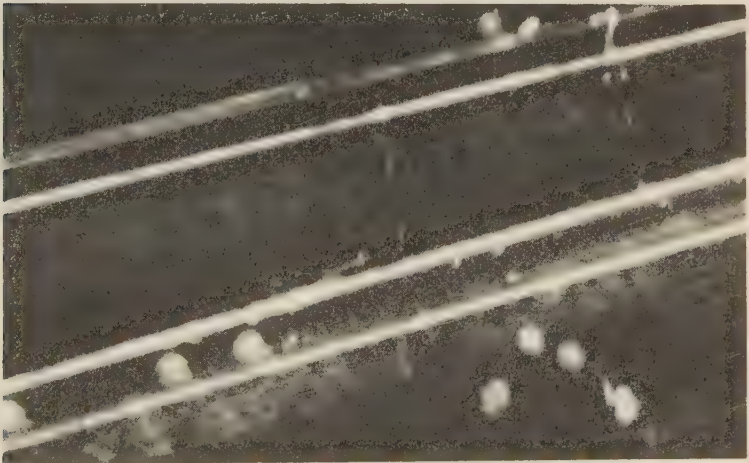


Abb. 27: Oocyten während der Na-Citrat-Behandlung; z.T. innerhalb einer Pipettenspitze

Nach mindestens 60-minütiger Na-Citratbehandlung werden die Oocyten dann unter dem Binokular bei 25 - 32-facher Vergrößerung mit einer feinen Pipette einzeln aufgesaugt und auf einen in einem Äther-Alkohol-Gemisch (1 : 1) gereinigten und somit absolut fettfreien, trockenen und kalten Objektträger übertragen. Da das sich nun auf dem Ob-

jektträger befindliche Ei noch von Na-Citrat umgeben ist, muß der Na-Citrat-Tropfen fast vollständig abgesaugt werden.

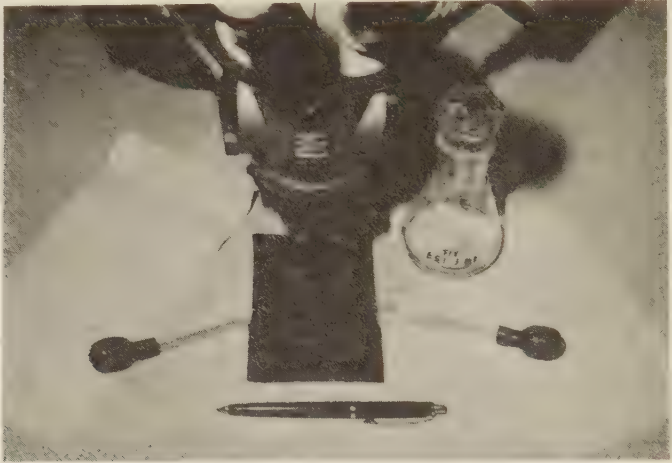


Abb. 28: Präparationsbesteck zur Oocytenfixierung

Die weiteren Präparationsschritte müssen schnell erfolgen, da die Oocyte vor dem Austrocknen bewahrt werden muß. Mit mehreren Tropfen eines Gemisches aus Methanol und Essigsäure im Verhältnis 3 : 1 wird die Oocyte fixiert, d.h. zum Platzen gebracht. Mit einem Markierungsstift -- ein Diamant- oder Glasschreiber -- wird nach der Fixierung die etwaige Lage der Chromosomen angezeigt. Dies ist zum Auffinden der Chromosomen bei der späteren mikroskopischen Auswertung sehr wichtig.

Ein so hergestelltes Chromosomenpräparat, pro Objektträger werden etwa drei bis fünf Oocyten fixiert, wird nach einer Lufttrocknung von mindestens einer Stunde in einer 2 % Orceinlösung -- 500 ml 100 % Essigsäure + 500 ml Aqua dest. + 20 g Orcein -- 60 Minuten lang gefärbt. Danach wird das

Präparat einer Alkoholbehandlung unterzogen -- eine aufsteigende Alkoholreihe 2 x je 2 Minuten 75 %, 95 % und 100 % --, um schließlich 30 Minuten in Xylol behandelt zu werden. Der noch feuchte Objektträger wird dann mit Eukitt und einem Deckglas eingedeckt und getrocknet.

Die Präparate werden anschließend unter dem Mikroskop bei ca. 1000 - 3200-facher Vergrößerung begutachtet, analysiert und photographisch festgehalten. Eine ungestörte, normale Metaphase II einer unbefruchteten Oocyte ist auf der folgenden Abbildung zu sehen.

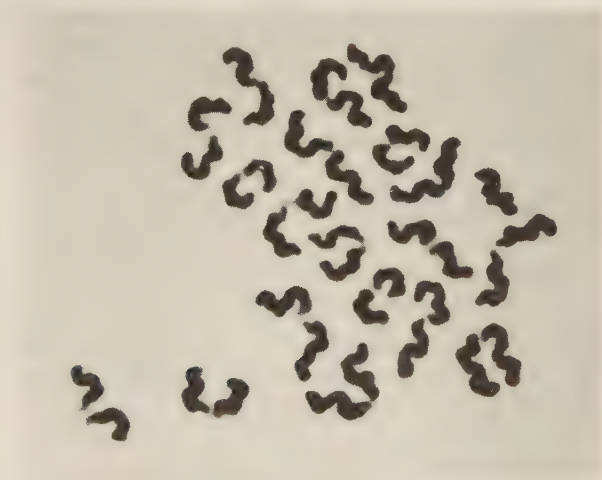


Abb. 29: Chromosomensatz einer ungestörten M II-Oocyte einer unbehandelten weibl. Maus

2,5. Kriterien der M II-Analyse

Die mikroskopische Analyse der M II-Oocyten erfolgte nach folgenden Kriterien:

Jede Oocyte wurde unter dem Mikroskop zuerst nach ihrer Auswertbarkeit beurteilt, d.h. es mußte jedes Chromosom einer M II einzeln zu analysieren sein. Metaphasen, die diesen Ansprüchen nicht genügten, wurden als nicht auswertbar gewertet und fanden somit auch in der Aberrationsstatistik keine Berücksichtigung. Die auswertbaren Metaphasen wurden dann nach strukturellen Anomalien wie Fragment, Bruch, Deletion, Ring, Gap oder Satellitenassoziation und numerischen Chromosomenaberrationen wie Hyper- und Hypoploidien untersucht. Als hyperploid wurden M II mit mehr als 20 Chromosomen und als hypoploid alle M II mit nur 19 Chromosomen gewertet. Metaphasen mit weniger als 19 Chromosomen wurden aus präparationstechnischen Gründen nicht gewertet. Die statistische Absicherung der Versuchsergebnisse erfolgte mit dem χ^2 -Test, bei dem p-Werte $\leq 0,01$ als signifikant zu werten sind.

3. Versuch zum Thema "Alkohol und Teratogenese"

Ein zusätzlicher Versuch, in dem die teratogene Wirkung von Alkohol untersucht werden sollte, wurde mit den weiblichen Tieren durchgeführt, die die alkoholische Trinkphase überlebt hatten, und die nicht für die Oocyten-Testreihe verwendet worden waren.

Hierzu wurden neun Weibchen, deren Alter ca. 12 - 14 Wochen betrug und deren Alkohol-Trinkphase (15 % Äthanol) bereits mit der 3. Lebenswoche begonnen hatte, mit unbehandelten Männchen verpaart. Nach stattgefundener Kopulation und positivem Vaginalbefund (Vaginalpfropf) wurden die Männchen abgesetzt. Die nun trächtigen Weibchen erhielten auch weiterhin bis zum Zeitpunkt der Geburt 15 % Äthanol als Trinkwasser. Die Nachkommen dieser Tiere wurden dann nach folgenden Kriterien beurteilt: Wurfgröße, Geburtsgewicht,

postnatale Gewichtsentwicklung und postnatale Mortalität.

Zur Kontrolle wurden 5 unbehandelte, weibliche Tiere mit ebenfalls unbehandelten Männchen verpaart und deren Würfe nach den gleichen Kriterien beurteilt.

VI. ERGEBNISSE

1. Alkoholdosis

Im folgenden Abschnitt folgt eine genaue Aufschlüsselung über den Alkoholverbrauch der einzelnen Tiere während verschiedener Versuchsperioden, sowie die Ergebnisse der zur Kontrolle durchgeführten Alkoholverdunstung.

In den insgesamt 81 Versuchstagen verdunsteten insgesamt 151,9 g 15 % Äthanol. Daraus ergaben sich folgende Verdunstungswerte:

1,875 g 15 % Äthanol pro Tag $\hat{=}$ 229,404 mg 100 % Äthanol
pro Tag

Bei der Auswertung des Alkoholverbrauchs in der 1. Versuchswoche, in der 7. und somit letzten Woche vor der Verpaarung, in der Verpaarungszeit, d.h. in der Zeit, in der die später zur Analyse gelangten Oocyten ihr Ruhestadium aufgaben und schließlich das Oogenesestadium der M II erreichten, und während der gesamten Versuchszeit, d.h. der Zeitraum vom Beginn der Alkoholtrinkperiode bis zum Zeitpunkt der Verpaarung, wurden insgesamt die Werte von 64 Tieren bzw. 16 Trinkflaschen berücksichtigt. Die verwerteten Tiere hatten zu Beginn des Versuches ein Durchschnittsgewicht von 15 g, und sie erreichten zum Zeitpunkt der Verpaarung ein Körpergewicht von 27,5 g. Die folgenden Verbrauchswerte geben die getrunkene Menge Alkohol sowie die daraus resultierende Alkoholdosis nach Abzug der Verdunstungswerte an. Den in der Tabelle aufgeführten Berechnungen wurden folgende Werte zugrunde gelegt:

- Äthanol dichte 0,79 g/dm³
- 118,5 mg Äthanol pro ml 15 % Äthanol
- 1 ml 15 % Äthanol $\hat{=}$ 0,9685 g abs. Gewicht

SERIE	ÄTHANOLVERBRAUCH			
	1. VERSUCHS- WOCHE	7. VERSUCHS- WOCHE	VERPAARUNGS- ZEIT	VERSUCHS- ZEIT GES.
1/I	0,74 g	2,15 g	2,01 g	1,78 g
2/I	0,58 g	2,02 g	1,97 g	1,71 g
3/I	0,46 g	2,68 g	3,34 g	2,26 g
9/I	0,91 g	2,49 g	2,27 g	2,21 g
11/I	-0,33 g ?	2,95 g	2,72 g	3,24 g
3/II	0,32 g	3,83 g	2,04 g	1,97 g
9/II	2,70 g ?	1,78 g	0,87 g	1,46 g
1/III	0,40 g	2,13 g	2,92 g	1,86 g
4/III	0,36 g	3,13 g	2,31 g	2,43 g
6/III	0,60 g	2,71 g	2,12 g	2,31 g
7/III	0,25 g	1,89 g	2,14 g	1,38 g
9/III	0,23 g	2,17 g	2,37 g	1,59 g
1/IV	0,14 g	2,80 g	2,79 g	2,24 g
4/IV	0,24 g	2,86 g	1,96 g	2,15 g
9/IV	0,09 g	2,20 g	2,10 g	1,59 g
10/V	0,25 g	2,19 g	1,78 g	1,66 g
g 15 % Äth. pro Tag u. Tier	0,50 g	2,50 g	2,23 g	1,99 g
mg 100 % Äth. pro Tag u. Tier	60,71 mg	305,64 mg	273,02 mg	243,60 mg
mg 100 % Äth. pro g KG u. Tag	4,047 mg/g KG 15 g	11,114 mg/g KG 27,5 g	9,928 mg/g KG 27,5 g	11,07 mg/g KG 22 g

Abb. 30: Alkoholverbrauch der Tiere und die tägliche
Alkoholdosis in den einzelnen Versuchsphasen

Eine zusammenfassende Aufstellung der aufgenommenen Alkoholdosis pro Tag und Tier ist in der Abbildung 31 zu sehen. Die dort angegebenen Werte über die tägliche Alkoholaufnahme liegen abgesehen von den Werten in der 1. Versuchswoche über der für Mäuse errechneten LD_{50} von 9,488 mg/g (MALING, 1970). Die niedrigen Werte der 1. Versuchswoche lassen sich damit erklären, daß sich die Tiere erst einmal an die neue Flüssigkeit gewöhnen mußten, und sie daher nur geringe Verbrauchszahlen erzielten. Der im Vergleich zur gesamten Versuchszeit geringere Verbrauchswert zur Zeit der Verpaarung ist versuchsbedingt (das zugesetzte Männchen mußte trotz unzureichender Alkoholgewöhnung mitbewertet werden), so daß in Bezug auf die weiblichen Versuchstiere durchaus ein höherer Wert angenommen werden kann.

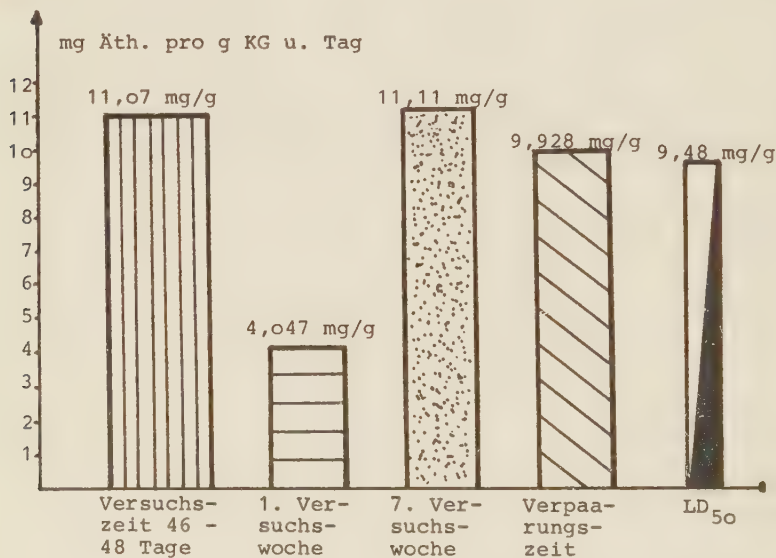


Abb. 31: Alkoholdosis pro g KG und Tag in den einzelnen Versuchsphasen im Vergleich zur LD_{50}

2. Alkoholtrinkphase

Das Auftreten des Vaginalpfropfes in Abhängigkeit vom Zyklus der Maus und somit als Indikator einer erfolgten Ovulation und der dadurch festgelegte Präparationstermin für jedes einzelne Tier führte dazu, daß nicht jedes Tier in der alkoholischen Testreihe genau 50 Tage der schädigenden Noxe ausgesetzt war. Da die Tiere auch während der Verpaarungszeit alkoholisches Trinkwasser erhielten, beläuft sich die Trinkzeit, d.h. die Zeit der chronischen Gabe von Alkohol, auf 50 bis 64 Tage. Eine genaue Aufstellung darüber nach wieviel Tagen der chronischen Gabe von Alkohol sich die einzelnen Tiere verpaarten und somit auch präpariert werden konnten, ist aus der folgenden Abbildung zu ersehen.



Abb. 32: Auftragung der Trinkdauer der einzelnen Tiere vor der Präparation

Eine Abhängigkeit des Auftretens von Mutationen an unfruchteten M II-Oocyten der Maus sowohl in Form und Anzahl von der Trinkdauer konnte im vorliegenden Versuch nicht festgestellt werden.

3. Überblick über Anzahl und Verwendung der Versuchstiere

Um für die Präparation immer eine ausreichende Anzahl von verpaarten Weibchen zu erhalten, wurden für einen Zeitraum von jeweils 6 Wochen insgesamt 15 Männchen vasektomiert, die dann mit 1 bis 4 Weibchen zusammengesetzt wurden (siehe dazu Verpaarungsschema Versuch Abb. 22 und Kontrolle Abb. 33).

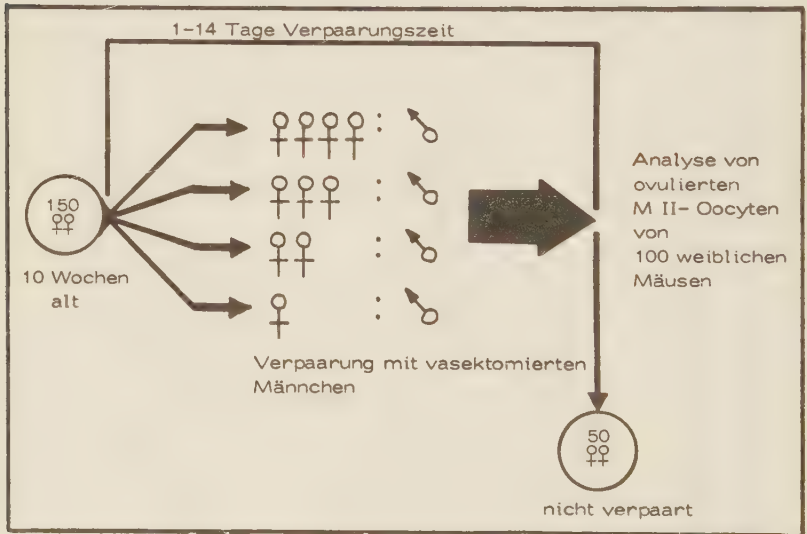


Abb. 33: Verpaarungsschema der Kontrolltiere

Von den 0 - 10 pro Tag verpaarten Tieren wurden dann maximal 6 Tiere präpariert.

Die Anzahl der Tiere, die insgesamt für den Versuch benötigt wurden, belief sich für die Kontrolle auf 150 weibliche Mäuse, von denen dann 100 nach Vorhandensein eines Vaginalpfropfes präpariert wurden, und für die alkoholische Testreihe auf 231 Tiere, von denen einige vorzeitig verstarben, andere während der Verpaarungszeit keinen positiven Vaginalbefund zeigten. Eine genaue Aufstellung darüber zeigt die folgende Tabelle (Abb. 34).

Serie	Anzahl der Tiere	lebende Tiere nach 15% Äth. über 50 Tage	tote Tiere während 50 Versuchstagen	verpaarte Tiere innerhalb 1-14 Tg.	nicht verpaarte Tiere
I	44	33	11	22	11
II	40	21	19	13	8
III	40	35	5	27	8
IV	40	31	9	25	6
V	47	22	25	9	13
VI	20	6	14	4	2
	231	148	83	100	48

Abb. 34: Aufstellung über die Verwertung der Versuchstiere

Wie aus der o.a. Tabelle zu entnehmen ist, gelang es auch in der Testreihe, 100 Tiere zu präparieren. Die in der Tabelle aufgeführten 83 während der 50-tägigen Alkoholphase verstorbenen Tiere gingen hauptsächlich in den ersten Tagen nach Gabe des alkoholischen Trinkwassers ein. Diese Tiere verweigerten die Aufnahme von 15 % Äthanol und starben wahrschein-

lich an der fehlenden Flüssigkeitsaufnahme; während die restlichen Tiere an den Folgen der ständigen Alkoholzufuhr oder an anderen Krankheiten verstorben zu sein scheinen. Eine genaue Angabe über die Todesursache kann jedoch nicht gemacht werden, da keine Sektion der eingegangenen Tiere durchgeführt wurde.

4. Oocytenausbeute

Die Präparation von je 100 Kontroll- und Versuchstieren erbrachte insgesamt eine Oocytenanzahl von 1072 bzw. 1073, wobei pro Tier 6 - 17 bzw. 5 - 18 Oocyten zu verzeichnen waren.

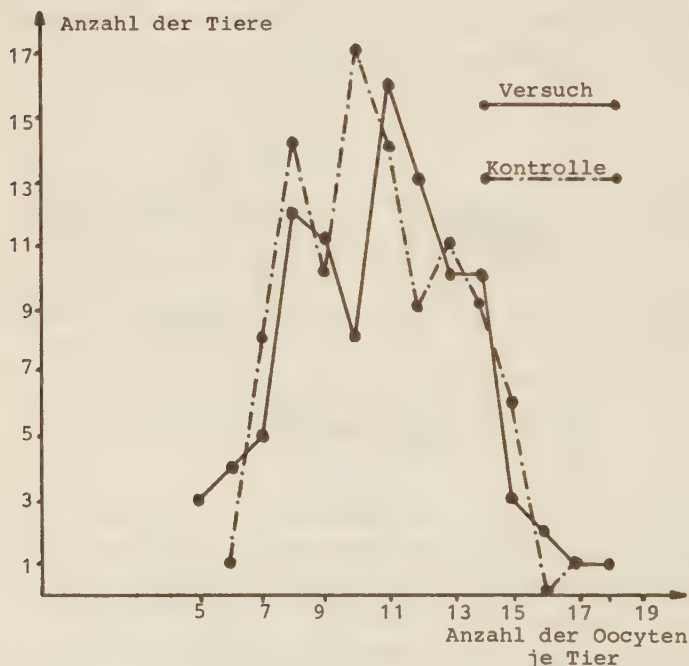


Abb. 35: Häufigkeitsverteilung der ovulierten Oocyten pro Tier

Wie aus der obigen Abbildung zu ersehen ist, erbrachte die Ovulation der meisten Weibchen eine Oocytenzahl von 10 - 11, während höhere Oocytenzahlen nur von wenigen Tieren erreicht wurden. Dies stimmt mit Versuchsergebnissen von RÖHRBORN (1975) überein, der bei Versuchen zur "Altersabhängigkeit des spontanen Non-Disjunction-Prozesses bei der Maus" bei Tieren im Alter von 6 - 19 Wochen im Durchschnitt ebenfalls die gleichen Werte feststellte, wie die Abbildung 36 zeigt.

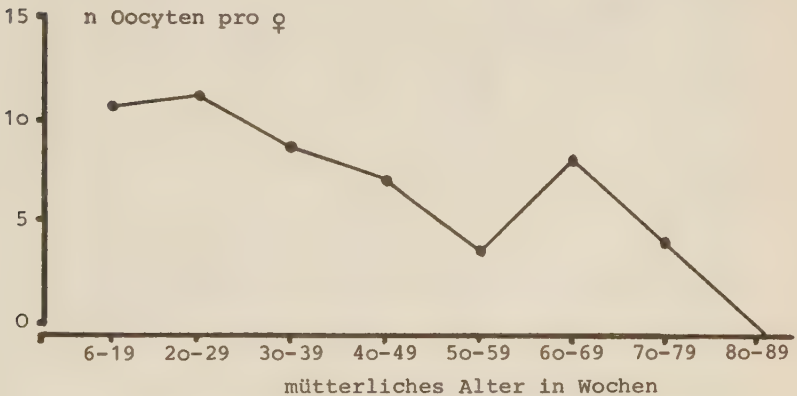


Abb. 36: Oocytenanzahl in Abhängigkeit vom Alter des weiblichen Tieres (nach RÖHRBORN, 1975)

5. Metaphasenausbeute

Von den pro Tier ovulierten Oocyten konnten in der Kontrolle 0 - 6 und im Versuch 0 - 10 Metaphasen als auswertbares M II-Stadium gewertet werden. Insgesamt ergab dies für die Kon-

trolle 202 und für den Versuch 260 auswertbare M II. Dies entspricht einem Durchschnitt von 2,02 bzw. 2,60 M II pro Tier.

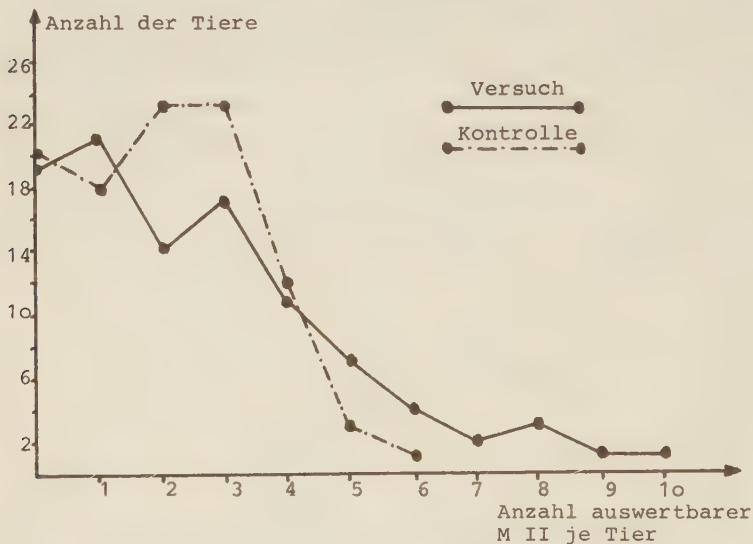


Abb. 37: Metaphasenausbeute pro Tier

Wie aus der Abbildung 37 zu ersehen ist. konnten bei 20 bzw. 19 Tieren keine auswertbaren Metaphasen gefunden werden. Bei diesen Tieren lagen Oocytenpräparate vor, die entweder durch Chromosomenüberlagerungen oder durch Chromosomenzahlen unter 19 sowie durch Präparationsfehler nicht gewertet werden konnten. Weiterhin macht die Abbildung 37 deutlich, daß die im Versuch angewandte Präparationsmethode in den meisten Fällen 2 - 3 verwertbare M II pro Tier erbrachte, und nur unter optimalen Bedingungen eine höhere Ausbeute zu erzielen war. Die Gründe hierfür sind vielfältiger Natur und auch zum Teil me-

thodenbedingt. Denn schon geringe Zeitüberschreitungen in den einzelnen Präparationsphasen und ungeschicktes Hantieren bei der Fixierung der Oocyten senken die Zahl der analysefähigen Oocyten beträchtlich.

Die folgende Tabelle (Abb. 38) zeigt eine genaue Aufstellung der im o.a. Teil besprochenen Werte.

	Anzahl präp. ♀		Anzahl Oocyten		Anzahl auswertbare M II		
	ges.	mit auswertbaren M II	100 ♀	pro ♀	je ♀	ges.	pro Tier im Schnitt
K O N T R O L L E	100	80	1072	6-17	0-6	202	2,02
V E R S U C H	100	81	1073	5-18	0-10	260	2,60

Abb. 38: Metaphasenausbeute

6. Auswertung nach aberranten Metaphasen II

Die Auswertung der analysefähigen Metaphasen ergab folgende Befunde (Abb. 39 und Abb. 40):

Es konnte ein Anstieg der hypoploiden M II (19 Chrom.) von 12 (5,94 %) in der Kontrolle auf 27 (10,38 %) im Versuch festgestellt werden. Waren in der Kontrolle keine Hyperplo-

idien zu verzeichnen, so wurden in der Versuchsauswertung 2 M II (0,769 %) mit einem hyperploiden Chromosomensatz (21 Chrom.) gefunden.

	Anzahl auswert- bare M II	Anzahl M II mit Aneuploidien		Anzahl M II mit strukturellen Aberrationen				
		19	21	D'	F'	B'	G'	SA
K O N T R O L L E	202	12	--	1	2	-	-	-
V E R S U C H	260	27	2	-	1	2	1	3

Abb. 39: Ergebnisse der Metaphasenanalyse

Die Zahl der strukturellen Aberrationen steigerte sich von 3 (1,485 %; 1 Deletion, 2 Fragmente) in der Kontrolle auf 6 (2,307 %; 1 Fragment, 2 Brüche, 3 Satellitenassoziationen) im Versuch. Außerdem konnte in der Versuchsserie ein Gap festgestellt werden, der jedoch bei der Berechnung der Aberrationsrate aus den bekannten Gründen (siehe Kap. IV.) nicht berücksichtigt wurde. Von den in der Abbildung 39 aufgeführten Aberrationen traten im Versuch bei 2 M II mehrere Aberrationen gleichzeitig auf. So zeigte eine M II sowohl eine hypoploide Chromosomenzahl (19 Chrom.) als

auch ein Fragment sowie einen Gap; eine andere M II zeigte eine Satellitenassoziation und ebenfalls eine hypoploide Chromosomenzahl. Die Zahl der aberranten M II stieg somit von 15 (7,425 %) in der Kontrolle auf 33 (12,691 %) im Versuch.

Die Auswertung dieser Ergebnisse nach dem χ^2 -Test ergab jedoch keine signifikante Steigerung der Aberrationen des Versuchs im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,05$ bzw. $p = 0,069$), wie aus der folgenden Tabelle (Abb. 40) zu entnehmen ist.

	M II mit mehreren Aberrationen	M II mit Aneuploidien 19 und 21		M II mit strukturellen Aberrationen		M II mit Aneuploidien und strukt. Aberrationen	
		n	%	n	%	n	%
K O N T R O L L E	-	12	5,94	3	1,485	15	7,425
V E R S U C H	2	29	11,153	6	2,307	33	12,691
		$\chi^2 = 3,82$		$\chi^2 = 0,4$		$\chi^2 = 3,39$	
		$p = 0,05$		$p = ---$		$p = 0,069$	

Abb. 40: Aberrationsraten und χ^2 -Test-Ergebnisse

7. Auswertung nach Tieren mit Chromosomenaberrationen

Eine Aufschlüsselung der Ergebnisse dieses Versuches, die

sich auf die einzelnen Tiere mit Chromosomenaberrationen bezieht, zeigt die folgende Tabelle (Abb. 41).

	Anzahl präp. Tiere	Anzahl Tiere ohne auswertbare M II	Anzahl Tiere ohne Aberrationen mit auswert- baren M II	Anzahl Tiere mit Aberrationen					Anzahl Aberra- tionen gesamt
				ges.	1	2	3	4	
K O N T R O L L E	100	20	68	12	10	1	1	-	15
V E R S U C H	100	19	54	27	22	2	2	1	35

Abb. 41: Tiere mit Aberrationen und Aberrations-
häufigkeit pro Tier

Aus der obigen Abbildung ist zu ersehen, daß bei je 100 Kontroll- bzw. Versuchstieren die Gesamtzahl der Aberrationen von 15 auf 35 und gleichzeitig auch die Zahl der Tiere mit Chromosomenveränderungen von 12 auf 27 anstieg. Aber auch die Anzahl der Tiere mit mehreren Aberrationen gleichzeitig steigerte sich bei den Versuchstieren, wie die folgende Abbildung noch einmal deutlich zeigt.

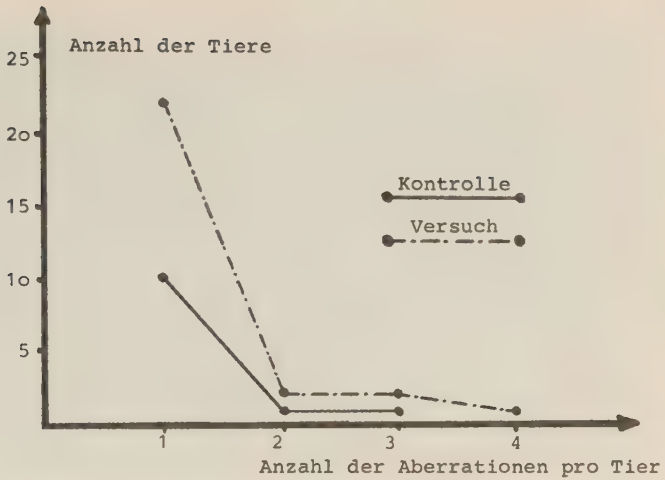


Abb. 42: Aberrationshäufigkeit pro Tier

8. Photographien aberranter Metaphasen II

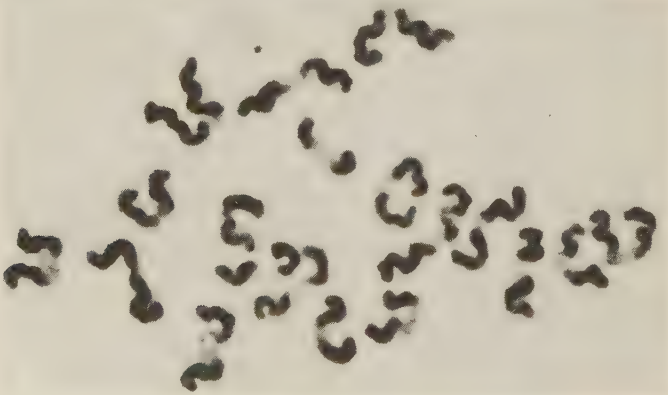


Abb. 43: M II einer weiblichen Maus mit einem hypoploiden Chromosomensatz (19 Chrom.)

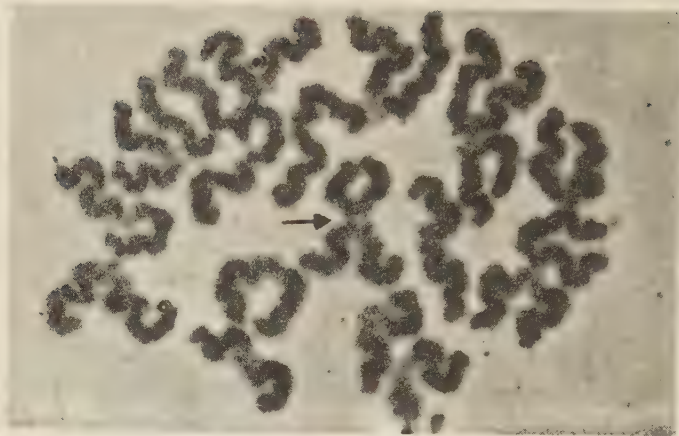


Abb. 44: M II einer weiblichen Maus mit
einer Satellitenassoziation

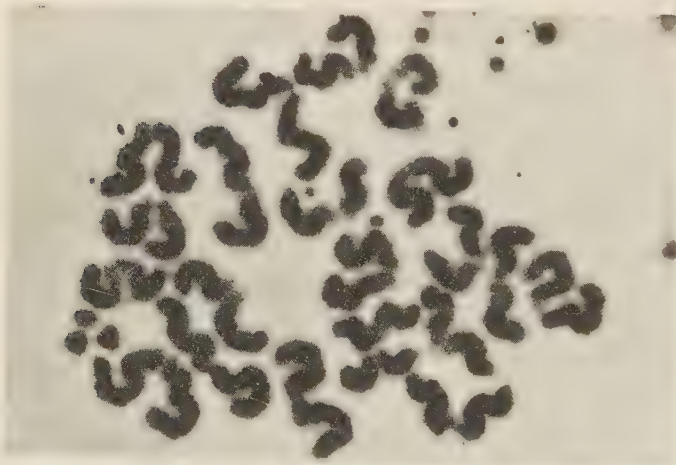


Abb. 45: M II einer weiblichen Maus mit
einem hyperploiden Chromosomen-
satz (21 Chrom.)

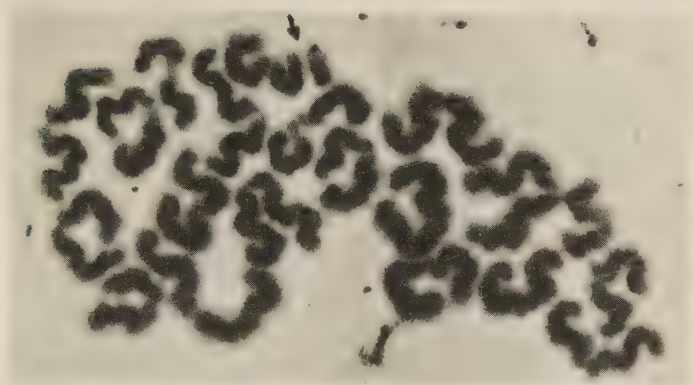


Abb. 46: M II einer weiblichen Maus mit
einem Chromatidenbruch

9. Ergebnisse der teratogenen Alkoholwirkung

Die Würfe der Versuchstiere lagen anzahlmäßig zwischen 7 und 14 Lebendgeburten (7, 9, 10, 2 x 11, 3 x 12, 14). Die Totgeburten, die registriert werden konnten, zeigten neben anderen Veränderungen mehrfach extremen Zwergwuchs und vereinzelt einen Anenzephalus. Das Geschlechtsverhältnis zeigte keine Tendenz zur männlichen oder weiblichen Seite hin. Einige der überlebenden Tiere zeigten bei der Beobachtung ihres Verhaltens eine gesteigerte Aktivität in ihren Bewegungen, die sich in ruckartigen, unkontrollierten und schreckhaften Bewegungsabläufen äußerte.

Von den insgesamt 98 lebendgeborenen Tieren der Versuchsserie verstarben innerhalb von 55 Tagen insgesamt 77 Tiere wie folgt (Abb. 47):

	Lebend- geburten	Postnatale Mortalität		Anzahl der Über- lebenden Tiere
		Anzahl	Zeitraum	
1. Wurf	11	11	49 Tg.	-
2. Wurf	12	8	50 Tg.	4
3. Wurf	7	2	55 Tg.	5
4. Wurf	11	11	18 Tg.	-
5. Wurf	12	10	54 Tg.	2
6. Wurf	14	14	13 Tg.	-
7. Wurf	12	12	12 Tg.	-
8. Wurf	10	7	20 Tg.	3
9. Wurf	9	2	19 Tg.	7
Gesamt	98	77		21

Abb. 47: Aufstellung der Lebendgeburten und der postnatalen Mortalität der Versuchstiere

Die obige Aufstellung zeigt, daß bei den Tieren alkoholierter Weibchen eine hohe postnatale Mortalität bestand. Die Geburtsgewichte dieser Tiere lagen im Durchschnitt bei 1,36 g und am 60 Tag p.p. hatten sie ein Gewicht von 23,4 g erreicht. Einen Vergleich der Gewichtsentwicklung mit un-behandelten Kontrolltieren zeigt die Abbildung 48.

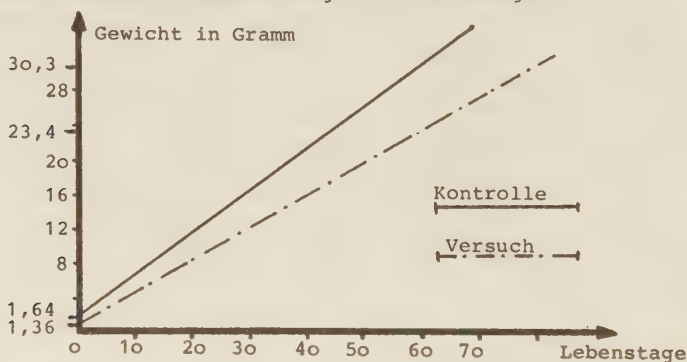


Abb. 48: Vergleich der Gewichtsentwicklung von Versuchs- und Kontrolltieren

Von den insgesamt 62 Lebendgeburten der Kontrolltiere verstarben innerhalb von 68 Tagen insgesamt 11 Tiere wie folgt:

	Lebend- geburten	Postnatale Mortalität Anzahl	Zeitraum	Anzahl der Über- lebenden Tiere
1. Wurf	13	4	68 Tg.	9
2. Wurf	9	1	67 Tg.	8
3. Wurf	11	2	65 Tg.	9
4. Wurf	13	2	23 Tg.	11
5. Wurf	16	2	21 Tg.	14
Gesamt	62	11		51

Abb. 49: Aufstellung der Lebendgeburten und der postnatalen Mortalität der Kontrolltiere

Die Kontrolltiere hatten mit 1,64 g ein um 0,28 g höheres Geburtsgewicht und am 60. Tag p.p. ein mit 30,3 g um 6,9 g höheres Gewicht als die Alkoholtiere. Außerdem war die postnatale Mortalität der Kontrolltiere mit 17,74 % gegenüber 78,57 % um 60,83 % geringer und die Wurfgröße mit 12,4 gegenüber 10,8 Tieren pro Weibchen etwas höher.

VII. DISKUSSION

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, auf die Frage nach der mutagenen Wirkung von Alkohol (Äthanol) anhand einer Chromosomenanalyse eine Antwort zu finden. Diese Chromosomenanalyse wurde nach einer cytogenetischen Methode von RÖHRBORN und HANSMANN (1971) an unbefruchteten M II-Oocyten der weiblichen Maus (Stamm "NMRI") durchgeführt. Diese M II-Oocyten-Präparations-Methode stellt einen guten und ausreichenden Indikator dar, um Veränderungen des genetischen Materials, die sich spontan oder aufgrund der Wirkung mutagener Noxen auf die präovulatorische Phase der Oogenese der Maus manifestiert haben, anhand von strukturellen und numerischen Chromosomenaberrationen zu erfassen.

Die Mutagenität von Alkohol konnte in diesem Versuch mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ($p = 0,05$) bzw. 6,9 % ($p = 0,069$) für die Parameter "numerische Aberrationen" bzw. "Gesamtzahl der Aberrationen" im zweiseitigen χ^2 -Test gesichert werden. Dies läßt zwar keinen endgültigen Schluß auf eine mutagene Gefährdung des menschlichen Erbgutes durch Alkohol zu, sollte jedoch dringender Anlaß weiterer intensiver Studien sein; denn wie das folgende Schaubild zeigt, das einen Vergleich aller gefundenen Chromosomenaberrationen in Kontrolle und Versuch anschaulich darzustellen versucht, ist ein Anstieg einiger Veränderungen auf chromosomaler Ebene nach der chronischen Gabe von 15 % Äthanol über 50 Tage und mehr zu verzeichnen gewesen.

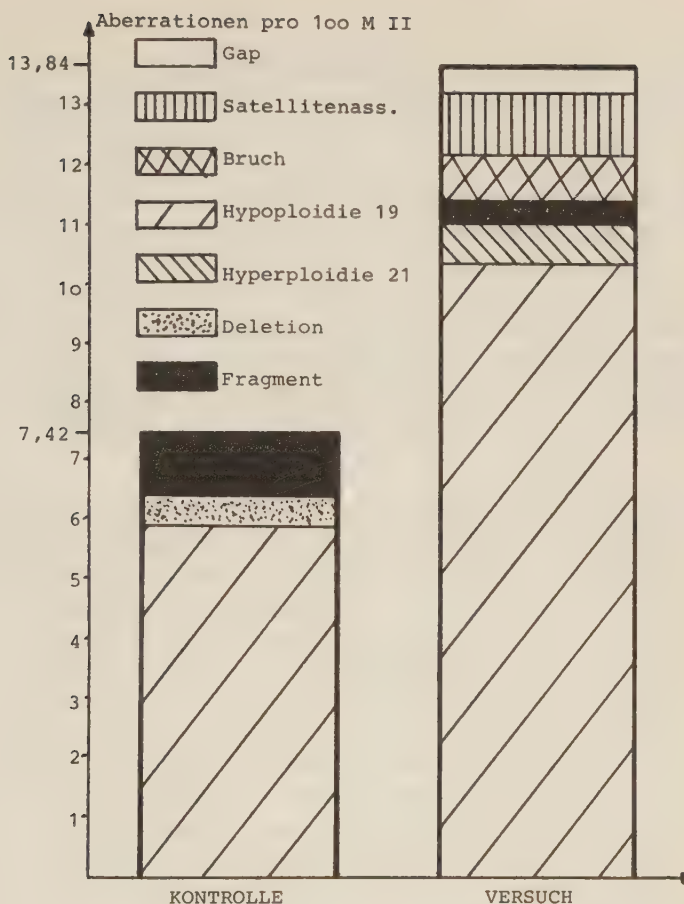


Abb. 50: Vergleich der chromosomalen Veränderungen von Kontrolle und Versuch

Den größten Anteil der in diesem Versuch analysierten Chromosomenaberrationen haben die numerischen Aberrationen. So

stieg die Anzahl der Aneuploidien von 12 (5,94 %) in der Kontrolle auf 29 (11,153 %) im Versuch an, wobei die Hypoploidien (19 Chr.) mit 27 im Versuch dominierten. Obwohl nach dem χ^2 -Test keine Signifikanz gegeben ist, gibt dieses Resultat trotzdem zu denken, da der Verlust wie auch die Überzahl eines Chromosoms als Letalfaktor zu werten sind, so daß es durchaus im Einzelfall möglich ist, daß Alkohol mit dazu beiträgt, einen frühzeitigen Fruchtverlust aufgrund fehlerhafter genetischer Information herbeizuführen. Nach Auswertung der Literatur sind Genommutationen wie die Trisomie mit 48,32 % und die Monosomie mit 20,1 % an der Spontanabortrate beteiligt (BOUË, 1973; CARR, 1971; WIECZOREK, 1971; KNÖRR, 1977).

Im Gegensatz zur Kontrollgruppe kam es im Alkoholtest auch zum Auftreten von überzähligen Chromosomen, sogenannten Hyperploidien mit 21 Chromosomen. Derartige Chromosomenkonstellationen können unter ungünstigen Verhältnissen beim Menschen zum Auftreten von Trisomien im Chromosomensatz des werdenden Kindes führen und dann Krankheitshilder wie z.B. Mongolismus verursachen.

Daß die Anzahl der hyperploidien Chromosomensätze im Verhältnis zur Anzahl der hypoploidien Eizellen derart gering war (Kontrolle 0 : 12; Versuch 2 : 27), kann folgende Gründe haben, wie sie z.T. auch schon RÖHRBORN (1972) aufzeigte:

1. ein einzelnes Chromosom kann vor der Metaphase II verloren gegangen sein
2. hyperploide Kerne können als 1. Polkörper abgegliedert worden sein
3. aufgrund des Präparationsvorganges kann es zu Verlusten

einzelner Chromosomen gekommen sein, so daß fälschlicherweise hypoploide Chromosomensätze analysiert worden sind.

4. die hypoploiden Chromosomensätze können durch sogenanntes "anaphase lagging" entstanden sein

Zum Punkt 3 kann für den vorliegenden Versuch angeführt werden, daß bei der Analyse eines hypoploiden Chromosomensatzes das Umfeld der Chromosomen auf dem Objektträger nach einem abseits gelegenen Chromosom durchgemustert wurde, um diesen Auswertungsfehler möglichst klein zu halten. /

Die hypoploiden Chromosomensätze der Kontrolle und zum gleichen Anteil auch die des Alkoholversuches lassen sich somit durch Präparationsfehler und spontane Ereignisse während der Oogenese ausreichend erklären.

Für das im Verhältnis zur Kontrolle jedoch vermehrte, aber leider statistisch nicht signifikante Auftreten von Hypoploidien und gleichzeitig auch für die überwiegende Anzahl von hypoploiden Eizellen im Gegensatz zur geringen Zahl der hyperploiden Kerne scheint die zutreffende Erklärung die These zu Punkt 4 zu sein. Da nach dem Entstehungsmechanismus von Aneuploidien durch sogenanntes "non - disjunction" eigentlich sowohl Hyper- als auch Hypoploidien in etwa gleicher Anzahl auftreten müßten, kann der überwiegende Anteil der hypoploiden Oocyten nur durch sogenanntes "anaphase lagging" entstanden sein. Denn nur dieser Mechanismus trägt dazu bei, wie schon im Kapitel IV aufgezeigt wurde, daß es zu Eizellen mit normalen Chromosomensätzen oder zum gehäuftem Auftreten von Hypoploidien kommt. Nur selten tritt eine hyperploide Eizelle auf. Man kann also zu dem Schluß kommen, daß im Ooge-

nesestadium der Anaphase I durch Einwirkung von Alkohol der normale Chromosomenverteilungsmechanismus durch "anaphase lagging" gestört wird, und somit hauptsächlich hypoploide Eizellen vermehrt zur Befruchtung bereitgestellt werden, die dann zu Spontanaborten oder kindlichen Mißbildungen führen können. Dies schließt jedoch nicht aus, daß auch vereinzelt hyperploide Eizellen entstehen können, wie es das Versuchsergebnis deutlich zeigt.

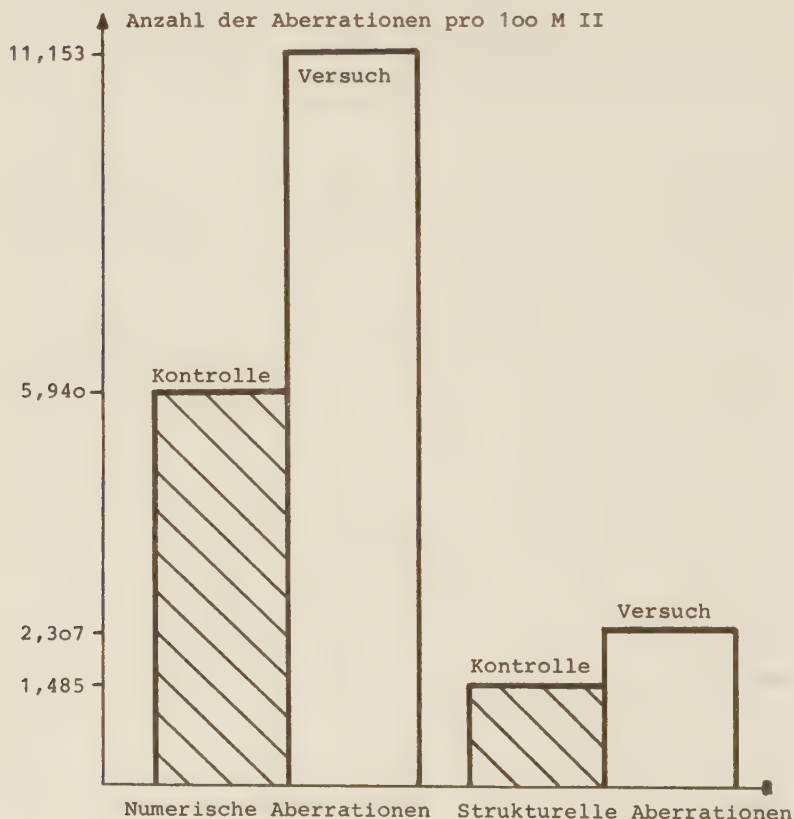


Abb. 51: Vergleich der numerischen und strukturellen Chromosomenaberrationen in Kontrolle u. Versuch

Strukturelle Chromosomenaberrationen traten im Versuch nur in geringer Anzahl auf und hatten im Vergleich zur Kontrolle nur eine unwesentlich geringe Steigerungsrate. Zeigte die Kontrollauswertung eine Deletion und zwei Fragmente, also insgesamt $3 \hat{=} 1,485$ % strukturelle Aberrationen, so vergrößerte sich dieser Aberrationspool im Versuch auf ein Fragment, zwei Brüche und drei Satellitenassoziationen, sowie einen Gap, der jedoch nicht mitgewertet wurde. Im Versuch traten also insgesamt $6 \hat{=} 2,307$ % strukturelle Aberrationen auf. Es ist sowohl eine leichte Steigerung als auch eine größere Variationsbreite festzustellen; denn in der Kontrolle konnten keine Brüche oder Satellitenassoziationen analysiert werden. Dies läßt jedoch in keiner Weise eine Deutung weder in positiver noch in negativer Richtung zu, da sowohl Deletionen als auch Fragmente oder auch Satellitenassoziationen (zentrische Fusion ?) einen Bruch eines oder beider Chromosomenarme als Erstereignis gemeinsam haben. Der mikroskopisch feststellbare Unterschied liegt allein darin, daß das abgebrochene Chromosomenstück entweder verloren ging oder einen bestimmten Reparatonsmechanismus unterworfen wurde. Die genetische Bedeutung im Hinblick auf die Ausprägung dieser Chromosomenaberrationen kann durch die im Versuch durchgeführte Chromosomenanalyse nicht geklärt werden. Man kann nur darauf hinweisen, daß durch strukturelle Chromosomendefekte wie Deletion, Bruch oder zentrische Fusion in der Embryonalentwicklung allgemein körperliche Fehlbildungen oder sogar Spontanaborte auftreten können. Der Anteil der strukturellen Chromosomenaberrationen an der gesamten Anzahl der Spontanaborte beträgt im Mittel 7,25 % (BOUÉ, 1973; CARR, 1971; WIECZOREK, 1971; KNÖRR, 1977).

Da jedoch der Anteil der strukturellen Chromosomenaberrationen im Versuch derart gering war, und eine Steigerung im

Verhältnis zur Kontrolle praktisch nicht gegeben war, kann eine Beteiligung des Alkohols an der Entstehung dieser chromosomalen Veränderungen durchaus ausgeschlossen werden. Als mögliche Ursache kann ein spontanes mutagenes Ereignis während der Oogenese angenommen werden.

Die Versuchsberichte anderer Autoren zum Thema "Alkohol und Mutagenese" lassen bisher auch keine eindeutige Aussage in positiver oder negativer Hinsicht zu.

Ob die Versuche, die von mehreren Autoren zu Beginn des 20. Jahrhunderts durchgeführt worden sind (BLUHM, 1921 - 1937; STOCKARD u. PAPANICOLAOU, 1916/18; MANN, 1923; HANSON et al., 1928; u.a.), den Schluß zu lassen, die mutagene Wirkung und somit die Einflußnahme des Alkohols auf das Genom des Säugers bewiesen oder widerlegt zu haben, muß bezweifelt werden. Denn sowohl die Durchführung als auch die Auswertung der Versuche zeigen im Verhältnis zu den analytischen Möglichkeiten der modernen Wissenschaft in der heutigen Zeit erhebliche Mängel.

Die in den letzten Jahren durchgeführten Versuche sind daher zwar in der Ausführung exakter, zeigen jedoch auch in den Ergebnissen erhebliche Unterschiede.

So kamen bisher nur BADR u. BADR (1975) zu einem positiven Ergebnis bei Säugetieren. Sie glauben, den mutagenen Einfluß von Alkohol auf gewisse Stadien der Spermatogenese der Maus bewiesen zu haben. Im Gegensatz dazu konnten MACHEMER und LORKE (1975) bei ihren Versuchen keinen schädigenden Einfluß von Alkohol auf die Oogenese der Maus feststellen. Dies deckt sich z.T. mit den Ergebnissen des hier vorliegenden Versuches über die Oogenese der Maus, wenn man von der

statistisch nicht abgesicherten Steigerungsrate der Hypoploidien absieht. Ein direkter Vergleich der Versuche von MACHEMER und LORKE sowie von BADR und BADR mit dem hier vorliegenden Versuch ist jedoch nicht möglich, da sie keine Chromosomenanalyse durchgeführt haben, sondern mit Hilfe des "dominant lethal test" ihre Ergebnisse erzielten.

Von einer Chromosomenanalyse im Hinblick auf die mutagene Wirkung von Alkohol berichteten u.a. SCHÖNEICH (1966), MICHAELIS (1959) und RIEGER (1960). Das positive Ergebnis von MICHAELIS und RIEGER, die bei Versuchen mit der Keimpflanze *Vicia faba* eine signifikante Steigerungsrate der strukturellen Chromosomenaberrationen feststellten, konnte weder SCHÖNEICH, der bei Versuchen mit Mäuseascitestumoren keine radiomimetische Wirkung von Alkohol beobachtete, noch durch den vorliegenden Versuch mit M II-Oocyten der weiblichen Maus bestätigt werden. Ob die Versuchsergebnisse von MICHAELIS und RIEGER nun auf den Säuger und damit auf den Menschen übertragbar sind, muß angezweifelt werden. Es bleibt also weiteren Versuchen überlassen, hier Klarheit zu schaffen.

Wenn also auf der genetischen Ebene nur geringe Anhaltspunkte für die schädigende Wirkung von Alkohol gefunden werden konnten, bleibt die Frage offen, welche Ursachen für die kindlichen Fehlbildungen (efAS) nach Alkoholgenuß der Mutter vor und während der Schwangerschaft verantwortlich sind. Hier bietet sich als wahrscheinliche Lösung die teratogene Wirkungsweise von Alkohol an.

In den letzten Jahren sind vereinzelt Tierexperimente durchgeführt worden, um die teratogene Wirkung von Äthanol zu beweisen und Erkenntnisse über die Pathogenese zu erlangen. So stellten PAPARA und NICHOLSON (1957) nach Verabreichung

von Äthanol an trächtigen Meerschweinchen bei den neugeborenen Tieren erniedrigtes Geburtsgewicht, zentralnervöse Störungen, Blindheit sowie bei der Sektion unvollständige Gyrierung der Gehirne und verzögerte Myelinisierung fest.

SANDOR (1968 u. 1971) beobachtete bei den Embryonen alkoholisierter trächtiger Ratten erhöhte Mortalität, verminderte Geburtsgewichte und Mißbildungen; ferner bei Hühnerembryonen, denen Äthanol unter die Eischale appliziert wurde, reduziertes Wachstum und Hirnentwicklungsstörungen.

Diese o.a. Versuche erbrachten in ihrer Auswertung nur jeweils Teilsymptome des beim Menschen zu beobachtenden embryo-fetalen Alkoholsyndroms (efAS). Erst 1975 gelang es CHERNOFF bei Mäusen ein dem menschlichen Krankheitsbild sehr ähnliches "Modell" zu imitieren.

Er verabreichte CBA und C3H-Mäusen, die eine unterschiedliche Alkoholdehydrogenase (ADH) aufweisen, verschiedene Alkoholkonzentrationen (0 - 30 %) mit der Nahrung über 30 Tage vor und während der Trächtigkeit. Auf diese Weise wurden Alkoholkonzentrationen im Blut von 0 - 420 mg/100 ml Blut erzeugt, das entspricht einem Blutalkoholspiegel von 0 - 4 ‰ -- die LD_{50} beläuft sich für die Maus auf 9,5 g/kg Körpergewicht oral und die letale Blutkonzentration ist 690 - 920 mg/100 ml Blut (MALING, 1970). Die trächtigen Weibchen wurden am 18. Tag p.c. getötet und die Embryonen nach verschiedenen Kriterien analysiert.

Bei den CBA-Mäusen lag die signifikante Zahl der intrauterin abgestorbenen und resorbierten Früchte bei 15 % Alkohol, der vollständige Fruchttod bei 30 %-iger Alkoholapplikation. Die C3H-Mäuse zeigten ähnliche Ergebnisse bei 30 % und 35 % Alkohol in der Nahrung. Weiterhin stellte CHERNOFF Skelet-

dysplasien an Schädel, Sternum und Rippen sowie Fehlbildungen an Gehirn, Augen, Herz und Bauchwand als auch das schon von anderen Autoren beschriebene Untergewicht der Embryonen fest. Diese Veränderungen wurden auch bei Alkoholkonzentrationen in der Nahrung von 25 % und mehr bei beiden Inzuchtstämmen festgestellt.

Die Versuche, die im Rahmen dieser Arbeit im Hinblick auf die teratogene Wirkung von Alkohol durchgeführt wurden, zeigten Ergebnisse, wie sie z.T. auch schon von den o.a. Autoren berichtet worden sind. Die Abkömmlinge der weiblichen Tiere, die vor und während der Trächtigkeit alkoholisches Trinkwasser (15 % Äthanol) aufgenommen hatten, zeigten eine geringe Wurfgröße, ein vermindertes Geburtsgewicht, hypotrophes Wachstum und eine hohe postnatale Mortalität.

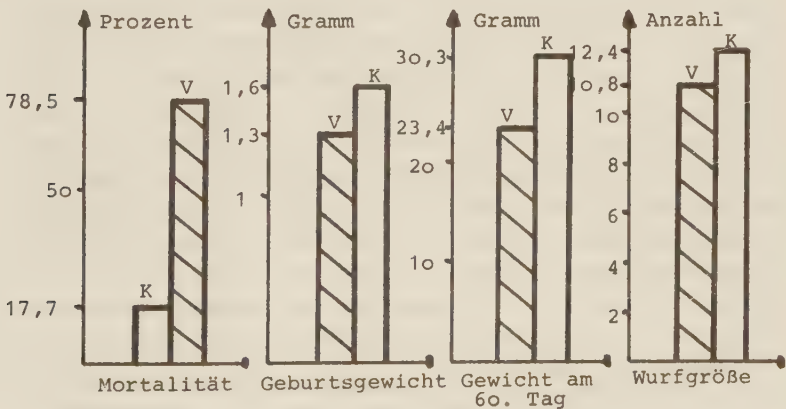


Abb. 52: Ergebnisse des Versuches zur teratogenen Wirkung von Alkohol

Eine ähnliche hypotrophe Gewichtsentwicklung, wie sie bei den Nachkommen alkoholisierter weiblicher Mäuse festge-

stellt werden konnten, konnte MAJEWSKI (1976) auch bei Untersuchungen an Kindern mit Alkohol-Embryopathie beobachten, wie die Abbildung 53 zeigt.

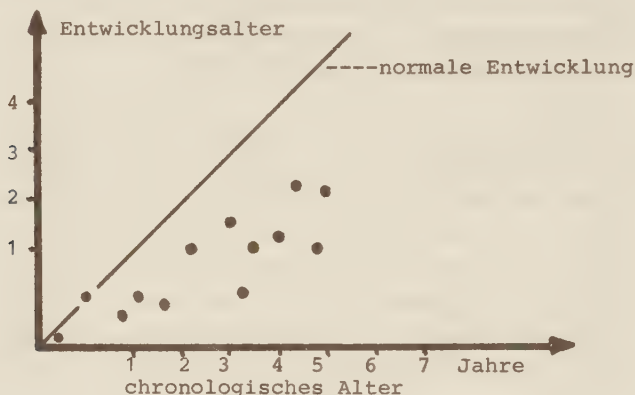


Abb. 53: Einzelmessungen des Gewichts von Patienten mit AE (15 Patienten; nach MAJEWSKI, 1976)

Die oben aufgeführten Versuche deuten alle daraufhin, daß Äthanol eine teratogen wirksame Noxe ist. Welcher genaue pathogenetische Mechanismus nun zum Auftreten des embryofetalen Alkoholsyndroms führt, ist im Einzelnen noch ungeklärt. Fest steht bis heute lediglich, daß

- die oft nachweisbare hochgradige Unterernährung der Mutter in der Gravidität nicht die Ursache des efAS ist; denn sie kann zwar zur Schwere der intrauterinen Hypotrophie beitragen, erklärt aber nicht die zahlreichen Mißbildungen (BIERICH, 1976; CHERNOFF, 1975);
- eine Leberinsuffizienz der schwangeren Frau nicht Voraussetzung für das Zustandekommen des efAS ist, wie Tierexperimente von CHERNOFF (1975) eindeutig gezeigt haben;

- chromosomale Aberrationen in keinem der bisher untersuchten Fälle nachgewiesen werden konnten (FERRIER, 1973; JONES, 1973).

Als pathogener Wirkungsmechanismus wird daher von JONES (1973) und BIERICH (1976) die teratogene Wirkung von Äthanol oder eines seiner Zwischenprodukte beim Abbau zu Acetat postuliert. Zur Erhärtung der Tatsache, daß es Äthanol selbst und nicht der auch toxische Acetaldehyd ist, das die schädlichen Auswirkungen auf die Embryonal- und Fetalentwicklung ausübt, können folgende Fakten herangezogen werden: Äthanol kann die Plazentaschranke sehr gut passieren (MANN et al., 1975) und der Blutalkoholspiegel der Mutter läßt sich somit sehr schnell im Blut des Embryo bzw. Feten nachweisen. Da aber der Embryo noch nicht im vollen Umfang über eine aktive Alkoholdehydrogenase (ADH) verfügt - das Enzym, das Äthanol zu Acetaldehyd umbaut und eine zentrale Stellung im Metabolismus des Äthanols als schrittbegrenzendes Enzym hat -, und das Enzym auch in der Leber des Feten nur in einer Aktivität vorhanden ist, die gerade 10 % der Erwachsenenwerte erreicht (RÄIHA u. PIKKARAINEN, 1971), bleibt ein hoher Blutalkoholspiegel aufgrund der geringen Metabolisierungsfähigkeit des embryonalen und fetalen Organismus lange erhalten. Das schädigende Agens "Äthanol" kann also seine cytotoxische Wirkung im Blut und Gewebe des werdenden Kindes voll entfalten.

Möglicherweise ist in pathogenetischer Hinsicht neben der mangelnden Metabolisierungsfähigkeit des Äthanols durch den Embryo oder Feten auch der ungenügende Alkoholabbau durch die schwangere, alkoholtrinkende Frau von Bedeutung. MAJEWSKI (1976) konnte bei den Müttern alkoholgeschädigter Kinder Transaminaseerhöhungen feststellen, so daß die Schädigung des Kindes auch von der Höhe des Blutalkoholspiegels

der Mutter abhängig zu sein scheint, d.h. von der Menge des nicht metabolisierten Äthanol, das somit als schädigende Noxe über einen langen Zeitraum wirkungsvoll bleiben kann.

Da die Symptome des efAS nicht bei allen Kindern mit efAS gleichmäßig ausgeprägt sind, kommt BIERICH (1976) zu dem Schluß, daß die graduelle Ausprägung der Symptome mit der Quantität und Qualität des von der Mutter während der Schwangerschaft konsumierten Alkohols zusammenhängt. Neben dieser Dosis-Wirkungs-Beziehung, wie sie auch von MAU (1977) erwähnt wird, kann auch die Verkürzung der Schwangerschaft, wie sie von BIERICH (1976) mit 37,2 Wochen und von MAU (1977) mit einer 2 % höheren Frühgeborenenfrequenz angegeben wird, eine Rolle spielen.

Durch die anamnestische Erfragung der Trinkmengen der Mütter von Kindern mit efAS (die Trinkdauer der Frauen vor der Schwangerschaft betrug im Mittel 5,35 Jahre und die Trinkmenge während der Schwangerschaft betrug im Mittel 202 g reinen Alkohol täglich) konnte MAJEWSKI (1976) jedoch zeigen, daß kein deutlicher Einfluß der Trinkmengen auf Geburtsgewicht, Schwangerschaftsdauer und Schweregrad des Syndroms besteht. Außerdem stellte er keinen Einfluß der Alkoholsorte (Bier, Wein oder Schnaps) auf den Schweregrad der Fehlbildungen fest.

Als Fazit der Ergebnisse der vorliegenden Versuche über die mutagene Wirkung von Alkohol bleibt festzuhalten:

Nach der chronischen Gabe von Alkohol (15 % Äthanol) über 50 Tage und mehr kann es vermehrt zum Auftreten von numerischen Chromosomenaberrationen während der Oogenese der Maus kommen. Hierbei treten hauptsächlich hypoploide Chromosomensätze auf. Da der Anteil der hyperploiden Eizellen nur gering ist, läßt dies den Schluß zu, daß im Oogenese-

stadium der Anaphase durch die Einwirkung von Alkohol der normale Chromosomenverteilungsmechanismus durch sogenanntes "anaphase lagging" gestört wird und somit zum großen Teil hypoploide Eizellen zur Befruchtung bereitgestellt werden können. Alkoholgenuß vor der Schwangerschaft stellt daher zwar eine geringe, - die statistische Absicherung der vorliegenden Ergebnisse zeigte nur eine schwache Signifikanz -, jedoch eine zuberücksichtigende Gefahr für die Frucht einer schwangeren Frau dar.

Da sich aber nicht alle Mißbildungen und Spontanaborte durch die schwache mutagene Wirkung von Alkohol erklären lassen, und da bei den bisher untersuchten Fällen mit efAS keine chromosomalen Veränderungen gefunden werden konnten, muß die teratogene Wirkung während der Schwangerschaft selbst mit angeführt werden. Die Art der Mißbildungen bei Kindern mit efAS weisen daraufhin, daß die Hauptstörung der Entwicklung des Kindes im ersten Schwangerschaftstrimenon, also in der Zeit der Organogenese, liegen muß. Dies läßt sich durch Autopsien von efAS-Kindern anhand der Gehirndeformationen bestätigen (JONES, 1973; MAJEWSKI, 1976). Der Ausdruck von JONES "embryo-fetales Alkoholsyndrom" wird aufgrund dieser Tatsache von MAJEWSKI korrigiert auf den Terminus "Alkohol-Embryopathie" (AE).

Zur Pathogenese des efAS oder besser AE ist zu sagen, daß

- die konsumierte Menge an Alkohol keinen Einfluß auf die Gewichtsreduktion und Schwangerschaftsdauer hat;
- entscheidend für die Ausprägung des Syndroms zu sein scheint, inwieweit der Alkoholabbau bei der Mutter beeinträchtigt ist und somit ein hoher Alkoholspiegel im Blut lange aufrechterhalten bleiben kann;
- der Alkohol vom Embryo nur ungenügend abgebaut werden kann, so daß es Äthanol selbst zu sein scheint, das schädigend

wirkt und nur zum geringen Teil seine Abbauprodukte wie z.B. Acetaldehyd.

Da unter den 1,2 bis 1,5 Mill. Alkoholikern in der BRD sich schätzungsweise 300 000 Frauen im gebärfähigen Alter befinden und bei ca. 43 % aller Alkoholikerinnen im Falle einer Schwangerschaft mit einer Fruchtschädigung gerechnet werden muß, kann vor dem unkontrollierten Alkoholgenuß vor und während der Schwangerschaft nicht zu oft gewarnt werden. Denn jede Schwangerschaft unter uneingeschränktem Alkoholgenuß bringt Risiken für das Kind mit sich, die nicht vorhersehbar sind; ein gelegentlich getrunkenes Glas Wein oder Bier ist dagegen für Mutter und Kind risikolos. Eine späte, aber bisher letzte Prophylaxe zur Vermeidung eines geschädigten Kindes stellt die Interruptio dar, die bei derart disponierten Frauen nach eingehender Prüfung der näheren Umstände und Beratung der Mutter indiziert sein sollte. Zur Diagnose vor der Einleitung einer Interruptio steht neben der Prüfung des durch Amniozentese gewonnenen Fruchtwassers auf den Alkoholgehalt noch folgende Methode zur Wahl: Bestimmung des mittleren Erythrocyten-Volumens (MCV), das bei chronischem Alkoholismus aufgrund direkter toxischer Alkoholwirkung auf das Knochenmark erhöht ist (WU et al., 1974; FOLDENAUER, 1976).

Die Aufklärung und Beratung der alkoholabhängigen schwangeren Frau könnte also mit dazu beitragen, die Zahl der geborenen Kinder mit Alkohol-Embryopathie, die LEIBER (1976) auf jährlich 5000 - 6000 in der BRD schätzte, zu senken, sofern es nicht gelingt, die Frauen vom vermehrten und unkontrollierten Alkoholgenuß vor und während der Schwangerschaft abzuhalten.

Doch nicht nur den Frauen allein sollte es überlassen bleiben, dem Suchtmittel Alkohol zu widerstehen; sondern es sollte vielmehr eine Aufgabe unserer Gesellschaft sein, durch intensive Bemühungen zu versuchen, das Problem der Alkoholsucht zu lösen, damit wir der Verantwortung gerecht werden, für Leben und Gesundheit des ungeborenen Lebens das uns mögliche zu tun.

VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Die Aufgabe dieser Arbeit war es, die mutagene Wirkung chronischer Alkoholgabe auf die präovulatorische Phase der Oogenese der weiblichen Maus zu testen. Dazu erhielten 231 weibliche Tiere des Stammes "NMRI" für 50 bis 64 Tage 15 % Äthanol als Trinkwasser. Die täglich durchschnittlich aufgenommene Alkoholdosis lag pro Tier mit 11,07 mg/g Körpergewicht höher als die für Mäuse zutreffende LD₅₀ von 9,488 mg/g KG. Nach mindestens 50-tägiger Alkoholapplikation wurden die Tiere getötet und die Chromosomen der M II-Oocyten nach der Methode von RÖHRBORN und HANSMANN (1971) aufgearbeitet.

Die Auswertung der M II-Oocyten von 100 Kontroll- und 100 Versuchstieren zeigte einen Anstieg der hypoploiden M II (19 Chrom.) von 12 (5,94 %) in der Kontrolle auf 27 (10,38 %) im Versuch sowie einen Anstieg der hyperploiden Metaphasen (21 Chrom.) von 0 in der Kontrolle auf 2 (0,769 %) im Versuch. Die Anzahl der aneuploiden Metaphasen stieg damit von 5,94 % auf 11,153 % an, so daß die Mutagenität von Alkohol in diesem Versuch mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ($p = 0,05$) im zweiseitigen χ^2 -Test gesichert werden konnte. Eine Einwirkung von Alkohol auf den normalen Chromosomenverteilungsmechanismus durch sog. "anaphase lagging" im Oogenesestadium der Anaphase I ist durchaus anzunehmen.

Der Anteil an strukturellen Chromosomenaberrationen war in der Versuchsserie nur schwach erhöht (3 = 1,485 % in der Kontrolle; 6 = 2,307 % im Versuch), so daß ein spontanes mutagenes Ereignis angenommen werden kann.

Neben der möglichen mutagenen Wirkung dürfte die teratogene Wirkung von Alkohol im Hinblick auf die Alkohol-Embryopathie ausschlaggebend sein.

IX. LITERATURVERZEICHNIS

- ALBERMANN, et al. - Parental X-irradiation and chromosome constitution in their spontaneously aborted fetuses. Ann. Hum. Genet., London 36, S. 185 - 194, (1972)
- ASCHKENASY-LELU - C. r. hebd. Seanc. Acad. Sci. 246, S. 1275, (1958), (Abstr. Q. Jl. Stud. Alcohol 22, S. 660, 1961)
- AULA, P. - Chromosome breaks in leukocytes of chicken-pox patients. Hereditas (Lund) 49, S. 451 - 453, (1963)
- BADR, F.M. u. BADR, R.S. - Induction of dominant lethal mutation in male mice by ethyl alcohol. Nature 253, S. 134 - 136, (1975)
- BAKER, T.G. et al. - The uptake of tritiated uridine and phenylalanine by the ovaries of rats and monkeys. J. Cell Sci. 4, S. 655, (1969)
- BATTEGAY, R. et al. - Alkohol, Tabak und Drogen im Leben des jungen Mannes. Soz. u. pädog. Jugendkunde, Bd. 14, (1977)
- Alkoholismus bei Frauen. in: Problem der Suchtgefahren. Heft 15, Hoheneck-Verlag-GmbH-Ha, (1970)
- BENDER, M.A. u. GOOCH, P.C. - Somatic chromosome aberrations induced by human whole-body irradiation: The "Recuplex" criticality accident. Rad. Res. 29, S. 568 - 582, (1966)

BIERICH, J.R. - Über das embryo-fetale Alkoholsyndrom.
Europ. J. Pediat. 121, S. 155 ff., (1976)

BLUHM, A. - Über einen Fall experimenteller Verschiebung
des Geschlechtsverhältnisses bei Säugetieren.
S. B. preuss. Akad. Wiss. 35, S. 549 - 556, (1921)

- Weitere Versuche zur Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses bei Säugetieren. ZIAV 30,
S. 307 - 308, (1923)

- Über einige Versuche, bei Säugetieren das
Zahlenverhältnis der Geschlechter zu beeinflussen.
Arch. Rassen-Ges. biol. 16, S. 1 - 28, (1924)

- Bewirkt Alkoholisierung des Männchens der
weissen Maus eine Steigerung der Männchenziffer?
Biol. Zbl. 46, S. 651 - 656, (1926)

- Zum Problem "Alkohol und Nachkommenschaft".
Eine experimentelle Studie. Pp. 87. München: Lehmann
(1939)

- Zum Problem "Alkohol und Nachkommenschaft".
Arch. Rassen-Ges. biol. 24, S. 12 - 82, (1930)

- Über erbliche und nichterbliche Beeinflussung
der Nachkommenschaft durch väterlichen Alkoholismus.
ZIAV 57, S. 347 - 360 (1930)

- Über eine entgegengesetzt gerichtete Mutation
und Modifikation, bewirkt durch einunddasselbe Agens
(Alkohol). Biol. Zbl. 50, S. 102 - 113, (1930)

- Über einen Fall von Beeinflussung des Geschlechtsverhältnisses der Albino-Hausmaus durch Behandlung des Weibchens. ZIAV 62, S. 85 - 89, (1932)

- Das neueste Experiment über Alkohol und Vererbung. Z. Alkoholismus 41, S. 1 - 8, (1933)

- Ist Alkoholisierung des Männchens der weissen Maus imstande, die Männchenziffer zu steigern? Eine Erwiderung. Arch. Rassen-Ges. biol. 31, S. 22 - 28, (1937)

BORUM, K. - Oogenesis in the mouse. Exp. Cell Res. 24, S. 495 - 507, (1961)

BOUË, J. et al. - The epidemiology of human spontaneous abortions with chromosomal anomalies. Aging Gametes, Int. Symp., Seattle 1973, S. 330 - 348, (Karger, Basel 1975)

BRIDGES, C.B. - Deficiency. Genetics 2, S. 445, (1917)

BRØGGER, A. - Apparently spontaneous chromosome damage in human leukocytes and the nature of chromatid gaps. Humangenetik 13, S. 1 - 14, (1971)

BUCKTON, K.E. et al. - A study of the chromosome damage persisting after X-ray therapy for ankylosing spondylitis. Lancet II, S. 676, (1962)

BUDDECKE, E. - Grundriß der Biochemie. Walter de Gruyter + Co Verlag Berlin, (1971)

- CARLSON, J.G. - Some effects of X-radiation on the neuroblast chromosomes of the grasshopper, *Chortophaga viridifasciata*. Genetics 23, S. 569 - 609, (1938)
- CARR, D.H. - Chromosomes and Abortion. Adv. Hum. Genet. 2, S. 201, (1971)
- CHAUDHURI, A.C. - The effect of the injection of alcohol into the male mouse upon the secondary sex ratio among the offspring. Brit. J. exp. Biol. 5, S. 185 - 186, (1928)
- CHERNOFF, G. - A mouse model for the fetal alcohol syndrome. Teratology 11, S. 14 A, (1975)
- CHIUQUINE, A.D. - The identification, origin, and migration of the primordial germ cells in the mouse embryo. Anat. Rec. 118, S. 135 - 146, (1954)
- CHRISTEN, H.R. - Grundlagen der organischen Chemie. Verlag Sauerländer Aarau-Diesterweg-Salle, Frankfurt am Main, S. 165 - 178, 1. Auflg., (1970)
- CHRISTIAENS, L. et al. - Ann. Pediatr. 36, S. 37, (1960)
- COURT BROWN, W.M. - Human population cytogenetics. North-Holland Res. Monographs, Frontiers of Biol., Vol 5, (1967)
- CREW, F.A.E. - An attempt to disturb the sex-ratio in the mouse by the continued administration of alcohol to the male parent. Proc. Roy. Soc. Edin. 21, S. 89 - 96, (1926)

DANFORTH, C.H. - Alcohol and the sex ratio in mice. Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. 23, S. 305 - 308, (1926)

DARLINGTON, D.C. u. UPCOTT, M.B. - Spontaneous chromosome change. J. Genet. 41, S. 297 - 338, (1941)

- The activity of inert chromosomes in *Zea mays*. J. Genet. 41, S. 275 - 296, (1941)

EDWARDS, R.G. u. SEARLE, A.G. - Genetic radiosensitivity of specific post-dictyote stages in mouse oocytes. Genet. Res., Camb. 4, S. 389 - 398, (1963)

ELDERTON, E.M. u. PEARSON, K. - Eugen. Lab. Mem. 10, S. 1, (1910)

EVANS, H.J. - Chromosome aberrations and the target theory. in: S. Wolff (Ed.), Radiation induced chromosome aberrations, Columbia Univ. Press, N.Y., S. 8 - 40, (1963)

- Possible reasons for variation in chromosome radiosensitivity during mitotic and meiotic cycles. in: F. Sobels (Ed.), Repair from Genetic Radiation Damage, Pergamon Press, Oxford, S. 31 - 49, (1963)

FERRIER, P.E. et al. - Fetal alcohol syndrome. Lancet II, S. 1496, (1973)

FEUERLEIN, W. - Alkoholismus. Dtsch. Ärzteblatt, S. 1692, (1974)

- Alkohol und Schwangerschaft. Sendung 3. Dtsch. Fernsehen, (14.11.1975)

- FOLDENAUER, A. - Zur Diagnose des chronischen Alkoholismus. Dtsch. med. Wschr. 101, S. 1506, (1976)
- FOWLER, R.E. u. EDWARDS, R.G. - Induction of superovulation and pregnancy in mature mice by gonadotrophins. Endocrin. 15, S. 374 - 384, (1957)
- GEISLER, M. - Chromosomenanalyse bei Spontanaborten. Dtsch. Ärzteblatt 23, S. 1545, (1973)
- GENEROSO, W.M. - Chemical induction of dominant lethals in female mice. Genetics 61, S. 461 - 470, (1969)
- HADORN, E. - Begriffe und Termini zur Systematik der Letalfaktoren. Arch. Jul. Klaus-Stiftg. 24, S. 105 - 113, (1949)
- Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für Erbrothologie und Genphysiologie der Entwicklung. Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, (1955)
- HAGGARD, H.W. u. JELLINEK, E.M. - Alcohol Explored. Garden City, N.Y., (1942)
- HAMERTON, J.L. - Human Cytogenetics. General Cytogenetics Vol. I, Acad. Press New York u. London, (1971)
- HANSMANN, I. - Chromosome aberrations in M II-oocytes stage sensibility in the mouse oogenesis to Amethopterin and Cyclophosphamide. Mut. Res. 22, S. 175 - 191, (1974)
- HANSON, F.B. et al. - Alcohol and body weight in the Albino Rat. Genetics 13, S. 121 - 125, (1928)

- HANSON, J.W. - Fetal alcohol syndrom. JAMA, Vol. 235, No. 14, S. 1458, (1976)
- HERTIG, A.T. et al. - Thirty-four fertilized human ova, good, bad and indifferent, recovered from 210 women of known fertility. Pediat. 23, S. 202 - 211, (1959)
- HINCKERS, H.J. - Alkohol und Schwangerschaft. Fortschr. Med. 94. Jg., Nr. 31, S. 1771 ff., (1976)
- HOLZGREVE, W. - Frauenalkoholismus - seine Ursachen, Auswirkungen und Behandlungsmöglichkeiten.
in: Alkoholismus bei Frauen. Heft 15 der Schriftreihe zum Problem der Suchtgefahren, Hoheneck-Verlag-GmbH, S. 11 - 15, (1970)
- Zur steigenden Suchtgefährdung in der BRD und in anderen Ländern. Unter besonderer Berücksichtigung der Gefährdung junger Menschen. Suchtgefahren 20, S. 265, (1974)
- IJAIYA, K. et al. - Fetales Alkoholsyndrom. Dtsch. med. Wschr. 101, S. 1563 - 1568, (1976)
- JEON, K.W. u. KENNEDY, J.R. - The primordial germ cells in early mouse embryos: Light and Electron Microscopic Studies. Development Biology 31, S. 275 - 284, (1973)
- JONES, K.L. et al. - Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers, Lancet, Vol. I, June 9, S. 1267, (1973)
- JONES, K.L. u. SMITH, D.W. - Recognition of the fetal alcohol syndrom in early infancy. Lancet, Vol. II, Nov. 3, S. 999, (1973)

- The fetal alcohol syndrom.

Teratology 12, S. 1, (1975)

KIELHOLZ, P. u. BATTEGAY, R. - Vergleichende Untersuchungen über die Genese und den Verlauf der Drogenabhängigkeit und des Alkoholismus. Schweiz. med. Wschr. 97, S. 893 - 944, (1967)

KNÖRR, K. et al. - Das Abortgeschehen unter genetischen Aspekten. Der Gynäkologe, Bd. 10, Heft 1, (1977)

KUHLMANN, W. - Cytology and timing of meiotic stages in female germ cells of mammals and man. in: Chem. Mutagenesis in Mammals and Man. Vogel, F. u. Röhrborn, G., Springer-Verlag-Berlin, S. 180 ff. (1970)

KUSCHINSKY, G. - Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Georg Thieme Verlag Stuttgart, (1974)

LADRAQUE, P. - Alcoolisme et enfants. Paris, (1901)

LECOMTE, M. - Scalpel 103, S. 1133, (1950)

LEIBER, B. - Embryopathisches Alkoholismus-Syndrom in tausenden Fällen übersehen! Medizin 4, S. 1365 - 1371, (1976)

LEMBECK u. SEWING - Pharmakologie-Fibel. Berlin-Heidelberg, (1966)

LEMOINE, P. et al. - Les enfants de parents alcooliques anomalies observées, a propos de 127 cas. Arch. franc. Pediat. 25, S. 831, (1968)

- LÖSER, H. et al. - Katheteruntersuchungen zeigen: Herz-
vitien häufig bei fetalem Alkoholsyndrom. Ärztl.
Praxis 27, S. 3713, (1975)
- MAC DOWELL, E.C. et al. - Proc. Soc. exp. Biol. N.Y. 23,
S. 652, (1926)
- Arch. Entw. Mech. Org. 109,
S. 549, (1927)
- Am. Naturalist 62, S. 48, (1928)
- MACHEMER, L. u. LORKE, D. - Experiences with the dominant
lethal test in female mice: Effects of alkylating
agents and artificial sweeteners on pre-ovulatory
stages. Mut. Res. 29, S. 209 - 214, (1975)
- MAJEWSKI, F. et al. - Zur Klinik und Pathogenese der Al-
koholembryopathie. Münch. med. Wschr. 118, Nr. 50, (1976)
- MAKINO, S. et al. - Chromosome aberrations in leucocytes
of patients with aseptic meningitis. Chromosoma (Berlin)
16, S. 372 - 380, (1965)
- MALING, H.M. - Toxicology of single dosis of ethyl alcohol.
in: Alcohol and Derivatives. Int. Encycl. of Pharm.
and Ther., Vol II, Sec. 20, S. 277, (1970)
- MANN, L.I. et al. - Placental transport of alcohol and its
effect on maternal and fetal acid-base balance. Amer.
J. Obstet. Gynecol. 122, S. 837 ff., (1975)
- MANN, M.C. - A demonstration of the stability of the genes
of an inbred stock of *Drosophila melanogaster* under

- experimental conditions. J. Exp. Zool. 38, S. 213 - 244, (1923)
- MAU, G. - Genußmittelkonsum während der Schwangerschaft. Der Gynäkologe, Bd. 10, Heft 1, (1977)
- MICHAELIS, A. et al. - Äthylalkohol - radiomimetisches Agens bei *Vicia faba* L.. Naturwissenschaften 46, S. 381 - 382, (1959)
- MINTZ, B. - Embryological phases of mammalian gametogenesis. J. Cell Comp. Physiol. 56, Suppl. 1, S. 31, (1960)
- MORRISON, J.W. - Effects of X-rays in *Triticum*. Heredity 6 Suppl., S. 83 - 91, (1953)
- MULLER, H.J. - Artificial transmutation of the gene. Science 66, S. 84 - 87, (1927)
- MÜTING, D. - Alkohol und Leber. Ärztl. Praxis 23, S. 3699 - 3702, (1971)
- NEBEL, B.R. - Chromosome structure X. An X-ray experiment. Genetics 21, S. 605 - 614, (1936)
- Chromosome structure X. Further radiation experiments with *Tradescantia*. Amer. J. Bot. 24, S. 365 - 372, (1937)
- NICHOLS, W.N. - The role of viruses in the etiology of chromosomal abnormalities. Amer. J. Human. Gen. 18, S. 1 - 4, (1966)

- OAKBERG, E.F. - Relationship between stages of follicular development and RNA synthesis in the mouse oocyte. Mut. Res. 6, S. 155 - 165, (1968)
- OHNO, S. et al. - X-chromosome behavior in germ and somatic cells of *Rattus norvegicus*. Exp. Cell Res. 22, S. 535 - 544, (1961)
- PAINTER, T.S. u. MULLER, H.J. - The parallel cytology and genetics of induced translocations and deletions in *Drosophila*. J. Hered. 20, S. 287 - 298, (1929)
- PALMER, R.H. et al. - Congenital malformations in offspring of a chronic alcoholic mother. Pediatrics 53, S. 490, (1974)
- PAPARA-NICHOLSON, D. - Effects of alcohol reproduction and fetal development in guinea pig. Anat. Rec. 127, S. 438, (1957)
- PENROSE, L.S. u. DELHANTY, J.D.A. - Triploid cell cultures from a macerated foetus. Lancet I, S. 1261, (1961)
- PETERS, H. et al. - Desoxyribonucleic Acid Synthesis in Oocytes of Mouse Embryos. Nature 195, S. 915 - 916, (1962)
- PICKWORTH, S. et al. - Fertilization and early development in the chinese hamster, *Cricetulus griseus*. Anat. Rec. Vol. 162, No. 2, S. 197 - 207, (1968)

- RÄIHA, N.C.R. u. PIKKARAINEN, P.H. - The development of alcohol dehydrogenase and its isoenzymes. in: Metab. changes induced by alcohol. Martini, G.A. u. Bode, Ch. Springer-Verlag-Berlin, S. 1 ff., (1971)
- REICHERT, W. et al. - Chromosome anomalies in mouse oocytes after irradiation. Humangenetik 28, S. 25 - 38, (1975)
- REPORT - Report on drunkenness presented to the House of Commons by the select committee. (1834)
- RIEGER, R. u. MICHAELIS, A. - Genetisches und cytogenetisches Wörterbuch. Springer-Verlag-Berlin, 2. Auflg., (1958)
- Über die radiomimetische Wirkung von Äthylalkohol bei *Vicia faba*. in: Chemische Mutagenese. H. Stubbe, E.-Bauer-Gedächtnisvorl. Abh. Dt. Akad. Wiss. Berlin, Kl. f. Med. Nr. 1, S. 54 - 65, (1960)
- Die Auslösung von Chromosomenaberrationen bei *Vicia faba* durch chemische Agentien. Die Kulturpflanze 10, S. 212 - 292, (1962)
- Chromosomenmutationen. Jena, VEB, Gustav-Fischer-Verlag, (1967)
- RIEGER, R. et al. - A glossary of genetics and cytogenetics classical and molecular. Springer-Verlag-Berlin, (1968)

ROE, A. - Q. Jl. Stud. Alcohol 5, S. 378, (1944)

RÖHRBORN, G. - Über mögliche mutagene Nebenwirkungen von Arzneimitteln beim Menschen. Humangenetik 1, S. 205 - 231, (1965)

- The activity of alkylating agents I. Sensitivity mutable stages in spermatogenesis and oogenesis. in: Chem. Mutagenesis in Mammals and Man. Vogel, F. u. Röhrborn, G. Springer-Verlag-Berlin, S. 294 - 316, (1970)

- The dominant lethals: Method and cytogenetic examination of early cleavage stages. in: Chem. Mutagenesis in Mammals and Man. Vogel, F. u. Röhrborn, G. Springer-Verlag-Berlin, S. 148 - 155, (1970)

RÖHRBORN, G. u. HANSMANN, I. - Induced chromosome aberrations in unfertilized oocytes of mice. Humangenetik 13, S. 184 - 198, (1971)

RÖHRBORN, G. et al. - Induced chromosome aberrations in early embryogenesis of mice. Humangenetik 11, S. 316 - 322, (1971)

RÖHRBORN, G. - Frequencies of spontaneous non-disjunction in metaphase II oocytes of mice. Humangenetik 16, S. 123 - 125, (1972)

- Spontane und induzierte Mutationen beim Menschen. in: Handbuch der allg. Pathologie Bd. 9, Erbgefüge, S. 495 ff., (1974)

- Experimentelle Untersuchungen zur Altersabhängigkeit des spontanen Non-disjunction-Prozesses bei der Maus. in: Verhandlungen der Gesellschaft für Anthropologie und Humangenetik 13. Tagung, S. 239 - 241, (1975)

RUSSELL, L.B. u. RUSSELL, W.L. - The sensitivity of different stages in oogenesis to the radiation induction of dominant lethals and other changes in the mouse. in: Progress in Radiobiology. Ed. J.S. Mitchell, B.E. Holmes, Smith C.L., Oliver and Boyd, Ltd. Edin. (1956)

SANDOR, St. - The influence of aethyl-alcohol on the chick embryo. Rev. roum. Embryol. Cytol., Ser. Embryol. 5, S. 51, (1968)

- The influence of aethyl-alcohol on the chick embryo II. Rev. roum. Embryol. Cytol., Ser. Embryol. 5, S. 167, (1968)

SANDOR, St. u. AMELS, D. - The action of aethanol on the prenatal development of albino rats. Rev. roum. Embryol. Cytol., Ser. Embryol. 8, S. 105, (1971)

SAX, K. - Induction by X-rays of chromosome aberrations in Tradescantia microspores. Genetics 23, S. 494 - 516, (1938)

- An analysis of X-ray induced chromosomal aberrations in Tradescantia. Genetics 25, S. 41 - 68, (1940)

SCHAEFER, O. - Canad. Med. Ass. J. 87, S. 1333, (1962)

- SCHEID, W. u. TRAUT, H. - Ultraviolet-microscopical studies on achromatic lesions (gaps) induced in the chromosomes in *Vicia faba*. Mut. Res. 10, S. 159 - 161, (1971)
- Visualisation by scanning electron microscopy of achromatic lesions (gaps) induced by X-rays in chromosomes of *Vicia faba*. Mut. Res. 11, S. 253 - 255, (1971)
- SCHÖNEICH, J. - Zur Frage der mutagenen Wirkung von Äthylalkohol. Untersuchungen an Mäuseascitestumoren. Human-genetik 3, S. 84 - 85, (1966)
- SHERIDAN, W. - The induction by X-irradiation of dominant lethals mutations in spermatogonia of mice. Mut. Res. 2, S. 67 - 74, (1965)
- SNELL, G.D. - Biology of the laboratory mouse. Dover publications, Inc. N.Y., (1956)
- SPIEGELMANN, M. u. BENNETT, D. - A light- und electron-microscopic study of primordial germ cells in the early mouse embryo. J. Embryol. exp. Morph. 30, S. 97-118, (1973)
- STADLER, L.J. - On the genetic nature of induced mutations in plants. in: Proc. 6 Int. Congr. Genetics 1, S.274 - 294, (1932)
- STERN, H. u. HOTTA, Y. - DNA-synthesis in relation to chromosome pairing and chiasma formation. Genetics Suppl. 61, S. 27 - 39, (1969)

STOCKARD, C.R. u. PAPANICOLAOU, G.N. - A further analysis of the hereditary transmission of degnerary and deformations by the descendants of alcoholized mammals, I/II Am. Nat. 50, S. 65 - 88 u. S. 144 - 177, (1916)

- Further studies on the modification of the germ cells in mammals. The effect of alcohol on treated Guinea pigs and their descendants. J. Exp. Zool. 26, S. 119 - 226, (1918)

STOCKARD, C.R. - Proc. Am. phil. Soc. 62, S. 311, (1923)

SULLIVAN, W.C. - The children of the female drunkard. Med. Temp, Rev. 3, S. 72, (1900)

TOUGH, J. et al. - X-ray induced chromosome damage in man. Lancet II, S. 949, (1960)

TSUDA, H. - An electron microscope study on oogenesis in the mouse with special reference to the behavior of oogonia and oocytes at meiotic prophase. Arch. histol. jap. 25, S. 533 - 555, (1965)

ULLELAND, C. et al. - Pediatr. Res. 4, S. 474, (1970)

VOGEL, F. et al. - Mutationen durch chemische Einwirkung bei Säuger und Mensch. Dtsch. med. Wschr. 92, S. 2382 - 2388, (1967)

WARTBURG von, J.P. u. AEBI, H. - Stoffwechsel von Aethanol. in: Alkohol und Coffein. Wissenschaftliche Ver-

öffentlichungen der Dtsch. Ges. für Ernährung, Bd.
17, S. 1 - 14, Dr. Dietrich Steinkopff Verlag Darm-
stadt, (1970)

WIECZOREK, V. - Chromosomen-Anomalien als Ursache von
Fehlgeburten. Reihe: Das Wissensch. Taschenb., Abt.
Medizin, W.-Goldmann-Verl.-München, (1971)

WITSCHI, E. - Sex chromation and sex differentiation in
human embryos. Science 126, S. 1288 - 1290, (1957)

WU, A. et al. - Macrocytosis of chronic alcoholism. Lancet
I, S. 829, (1974)

ZAMBONI, L. u. MERCHANT, H. - The fine morphology of mouse
primordial germ cells in extragonadal locations. Am.
J. Anat. 137, S. 299 - 335, (1973)

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Humangenetik und Anthropologie der Universität Düsseldorf durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. G. RÖHRBORN sei hiermit für die Stellung des Themas sowie für viele wertvolle Ratschläge herzlich gedankt. Außerdem möchte ich ihm für die Bereitstellung der Versuchstiere und der technischen Einrichtungen danken.

L E B E N S L A U F

Am 13.2.1949 wurde ich in Holzwickede (Kreis Unna, NRW) geboren. Nach einer achtjährigen Volksschulzeit von 1955 bis 1963 besuchte ich das Aufbaugymnasium Unna, das ich 1969 nach bestandener Reifeprüfung verließ. Anschließend wurde ich zum Grundwehrdienst einberufen. Zum WS 1970/71 begann ich an der Ruhr-Universität-Bochum ein Biologiestudium. Nach bestandener Zwischenprüfung im Fach Biologie erhielt ich zum SS 1973 die Zulassung zum Studium der Humanmedizin an der Universität Düsseldorf, an der ich zur Zeit das 11. Fachsemester belege.

